“十一五”国家重点图书出版规划项目

10000个科学难题

10000 Selected Problems in Sciences

生 物 学 卷

Biology

“10000个科学难题”生物学编委会

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书是教育部、科学技术部、中国科学院和国家自然科学基金委员会联合组织开展的“10000个科学难题”征集活动的重要成果，书中的难题均由国内外知名的生物学专家撰写。书中收集了有关生物学很多分支学科及生物学的应用等方面的大量问题，以及当今一些重要的生物学问题。

本书可供高等院校和科研单位生物学领域的研究生、科研人员阅读参考，也可供对生物学感兴趣的其他读者阅读。有兴趣的读者可以在此基础上就其中的某一问题进行深入探索和研究，一些研究生也可以在导师的指导下选择其中的某一问题作为自己的研究课题。

图书在版编目（CIP）数据

10000个科学难题·生物学卷/“10000个科学难题”生物学编委会. —北京：科学出版社，2010

ISBN 978-7-03-029540-8

Ⅰ.①1… Ⅱ.①1… Ⅲ.①自然科学-普及读物 ②生物学-普及读物 Ⅳ.①N49 ②Q-49

中国版本图书馆CIP数据核字（2010）第224279号

责任编辑：夏 梁/责任校对：包志虹

责任印制：钱玉芬/封面设计：陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码：100717

http://www.sciencep.com

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010年12月第 一 版 开本：B5（787×1092）

2010年12月第一次印刷 印张：44 1/4

印数：1—3 500 字数：890 000

定价：138.00元

（如有印装质量问题，我社负责调换〈科印〉）

“10000个科学难题”征集活动领导小组名单

组　长　陈　希　刘燕华　李静海　孙家广

副组长　倪维斗

成　员（以姓氏拼音为序）

冯记春　韩　宇　马　扬　孟宪平　王伟中　谢焕忠
杨玉良　叶玉江

“10000个科学难题”征集活动领导小组办公室名单

主　任　陈盈晖

成　员（以姓氏拼音为序）

马晋并　吴晓东　鄢德平　朱蔚彤　朱小萍

“10000个科学难题”征集活动专家指导委员会名单

主　任　倪维斗　赵沁平

副主任　李家洋　赵忠贤　孙鸿烈

委　员（以姓氏拼音为序）

白以龙　陈洪渊　陈佳洱　程国栋　崔尔杰　冯守华
冯宗炜　符淙斌　葛墨林　郝吉明　贺福初　贺贤土
黄荣辉　金鉴明　李　灿　李培根　林国强　林其谁
刘嘉麒　马宗晋　欧阳自远　强伯勤　田中群　汪品先
王　浩　王静康　王占国　王众托　吴常信　吴良镛
夏建白　项海帆　徐建中　杨　乐　张继平　张亚平
张　泽　郑南宁　郑树森　钟　掘　周炳琨　周秀骥
朱作言　左铁镛

“10000 个科学难题”生物学编委会名单

《10000 个科学难题》序

爱因斯坦曾经说过“提出一个问题往往比解决一个问题更为重要”。在许多科学家眼里，科学难题正是科学进步的阶梯。1900 年 8 月德国著名数学家希尔伯特在巴黎召开的国际数学家大会上提出了 23 个数学难题。在过去的 100 多年里，希尔伯特的 23 个问题激发了众多数学家的热情，引导了数学研究的方向，对数学发展产生的影响难以估量。

其后，许多自然科学领域的科学家们陆续提出了各自学科的科学难题。2000 年初，美国克雷数学研究所选定了 7 个“千禧年大奖问题”，并设立基金，推动解决这几个对数学发展具有重大意义的难题。几年前，中国科学院编辑出版了《21 世纪 100 个交叉科学难题》，在宇宙起源、物质结构、生命起源和智力起源四大探索方向上提出和整理了 100 个科学难题，吸引了不少人的关注。

科学发展的动力来自两个方面，一是社会发展的需求，另一个就是人类探索未知世界的激情。随着一个又一个科学难题的解决，科学技术不断登上新的台阶，推动着人类社会的发展。与此同时，新的科学难题也如沐雨春笋，不断从新的土壤破土而出。一个公认的科学难题本身就是科学研究的结果，同时也是开启新未知大门的密码。

《国家中长期科学和技术发展规划纲要》提出建设创新型国家的战略目标，加强基础研究，鼓励原始创新是必由之路。为了引导科学家们从源头上解决科学问题，激励青年才俊立志基础科学研究，教育部、科学技术部、中国科学院和国家自然科学基金委员会决定联合开展“10000 个科学难题”征集活动，系统归纳、整理和汇集目前尚未解决的科学难题。根据活动的总体安排，首先在数学、物理学和化学三个学科试行，并根据试行的情况和积累的经验，陆续启动天文学、地球科学、生物学、农学、医学和信息科学等学科领域的难题征集活动。

征集活动成立了领导小组、领导小组办公室，以及由国内著名专家组成的专家指导委员会和编辑委员会。领导小组办公室公开面向高等学校、科研院所、学术机构以及全社会征集科学难题；编辑委员会讨论、提出和组织撰写骨干问题，并对征集到的科学问题进行严格遴选；领导小组和专家指导委员会最后进行审核并出版《10000 个科学难题》系列丛书。这些难题汇集了科学家们的知识和智慧，凝聚了参与编写的科技工作者的心血，也体现了他们的学术风尚和科学责任。

开展“10000 个科学难题”征集活动是一次大规模的科学问题梳理工作，把尚未解决的科学难题分学科整理汇集起来，呈现在人们面前，有利于加强对基础科学研究的引导，有利于激发我国科技人员，特别是广大博士、硕士研究生探索未知、摘取科学明珠的激情，而这正是我国目前基础科学研究所需要的。此外，深入浅出地宣传这些科学难题的由来和已有过的解决尝试，也是一种科学普及活动，有利于引导我国青少年从小树立献身科学、做出重大科学贡献的理想。

分学科大规模开展“10000 个科学难题”征集活动在我国还是第一次，难免存在疏漏和不足，希望广大科技工作者和社会各界继续支持这项工作，更希望我国专家学者，特别是青年科研人员持之以恒地解决这些科学难题，开启未知的大门，将这些科学明珠摘取到我国科学家手中。

赵沁平

2008 年 12 月

前　　言

为了引导科学家们从源头上研究科学问题，激励青年才俊立志基础科学研究，教育部、科技部、中国科学院、国家自然科学基金委员会四部门于 2007 年联合发起了“10000 个科学难题”的征集活动，归纳、整理和编辑目前尚未解决的科学难题。这项工作对于推动我国的科学技术创新和持续发展是很重要的。

作为第二批启动的卷册之一，生物学卷编委会于 2009 年 2 月开始按 7 个学科领域组织难题征集工作。根据国务院学位委员会办公室学科分类办法，征集的领域不涵盖农学和医学的基础内容。生物学卷编委会包括了我国生物学界许多专家学者，他们多数正当壮年，在各自的研究领域有丰富经验和杰出成果，并在我国学术界享有很高的知名度。经过广泛征集和定向约稿，共征集到 400 多个生物学难题。通过各学科领域专家的认真审议和严格遴选，从中甄选了 194 个难题。难题的作者们编写认真，编委会对难题文稿审读和修改认真，大家共同努力完成了本书的文稿。所以，这些难题汇集了科学家们的集体智慧，凝聚了参与编写的科技工作者的心血，也体现了他们的学术风范和对科学事业的责任心。本书的最后完成离不开“10000 个科学难题”征集活动领导小组成员在指导难题征集工作方向上的总体把握，以及编委会秘书处等支撑机构工作人员在组织协调方面大量的辛勤付出。

这次开展生物学难题征集工作也是对生物学科学问题认识的一次梳理。把尚未解决的科学难题分学科整理汇集起来有利于推动基础科学研究。其次，对这些科学难题的整理将在提高我国科学研究创新能力方面发挥某种导向作用，有利于激励科技人员，特别是包括广大博士后、博士研究生在内的青年科技工作人员献身科学、探索未知、攻克难题、撷取科学皇冠的明珠；深入浅出地解读这些难题将对普及科学知识、激发青少年热爱科学的兴趣、培养探索未知世界的好奇心发挥积极作用。

作为编委会的一员，我深知“10000 个科学难题”意义重大，生物学领域所包括的内容广泛。科学问题，尤其是尚未解决的科学问题往往存在更多不同的观点和争议。在编撰本书的过程中，编委会秉承严谨的科学态度，尽可能遴选各学科领域具有重要意义的科学难题。我们也注意到，因为种种原因，一些重要领域的知名生物学家尚未能参与赐稿，因而还有不少重要生物学难题没有收集进来，挂一漏万在所难免。同时，科学技术不断发展，人们的认识不断深化，对书中的某些观点持有

异议在意料之中。我们欢迎批评，并将在以后的版本中改进。

最后，我们感谢热心撰写难题的学者们，感谢从事具体组织和支撑工作的教育部科技委、中国科学院生命科学与生物技术局和动物研究所的同志们，感谢科学出版社的大力支持！你们的帮助使得本书能够顺利出版。如果本书的出版能够基本符合“10000个科学难题”的总体设计要求，能对读者起到微薄的作用，便是我们极大的欣慰。

朱作言

2010年10月

目　　录

动物、植物、微生物生物学

生命起源与演化生物学，生物多样性与系统生物学，生态学

遗传、细胞及发育生物学

生物化学、生物物理学、分子生物学、计算生物学与生物信息学

生理学、免疫生物学

神经生物学、生理心理学、认知与行为学

生物技术科学

动物、植物、微生物生物学

蜉蝣是不是最早分化的有翅昆虫?

Did Mayflies (Ephemeroptera)
Diverge from Other Winged Insects First?

蜉蝣是有翅昆虫中很独特的类群，具有一系列很原始的特征，如附肢较多、翅脉复杂、原变态、蜕皮次数较多、翅不能覆盖于背部、具长而分节的尾丝等。那么它们是最早分化出来的有翅昆虫吗?

根据化石以及形态特征，现存有翅昆虫可分为3个主要类群，即蜉蝣、蜻蜓以及其他有翅昆虫（新翅类）。有人提出蜉蝣是最早分化出来的类群，与（蜻蜓+新翅类）的关系较远，因为蜻蜓与新翅类都具有成虫不再蜕皮、通入中后胸的足与翅内的气管来自两个体节、腹部气孔的闭合肌与气孔骨片直接相连、R脉与Rs脉共柄、雌虫的生殖孔单个、中唇舌不发达、头胸部部分肌肉消失等特征[1,2]。但这一观点有很多反对意见[3-5]。

也有人提出蜻蜓才是有翅昆虫中最早分化出来的，因为蜉蝣与新翅类的成虫胸部都具发达的背纵肌，稚虫翅芽的折叠方式也相同，雄虫都直接将精子传到雌虫生殖孔[6]。而蜻蜓与它们在此三点上截然不同。但这些相同的特征能作为证据吗?

对此问题的争论引起一些科学家对蜉蝣的生活史、形态以及分子序列等都进行了详细研究。比如蜉蝣的生活史包含四个阶段，即卵、稚虫、亚成虫和成虫。与其他所有具翅昆虫的不同之处，就是蜉蝣的亚成虫与成虫都具有翅和飞行能力。如果将亚成虫及成虫都看作成虫期（因形态上二者极相似），可以说蜉蝣成虫期具有两个龄期，或成虫期仍然蜕皮一次。蜉蝣稚虫与亚成虫以及成虫的外形差别很大，生活环境不同，又有亚成虫期，这种变态类型常专门称为原变态。有人认为蜉蝣的亚成虫相当于全变态类的蛹期，不完全变态和完全变态都源自于原变态：延长卵期并减去亚成虫期就变成了不完全变态，而亚成虫进化成蛹期就是完全变态[7]。但较新的观点认为，现今所有变态类型都源自不变态类型。原始有翅类的稚虫到成虫之间无明显的变态过程，翅的发生和发育是逐步的、渐进的过程，且翅芽与胸部之间具有可动的关节。翅的完善需要有若干龄期，在真正的成虫期之前有若干个相当于蜉蝣亚成虫期的龄期。在选择压力作用下，所有的有翅昆虫都需要尽可能地减少蜕皮次数，同时翅需要由稚虫期的向后或侧后方伸展变成成虫期的向侧方伸展。结果就是变态的产生，即在一次或少数几次蜕皮过程中完成原始的多次蜕皮，因而每一次蜕皮后，虫体都会发生很大的变化，这就是变态过程。由于不同的类群缩减和压缩不同的发育阶段，就产生了不同的变态类型。不完全变态（如蝗虫）就减去了幼虫

期和多个相当于亚成虫期的发育过程而使与它们相对应的发育过程在第一次和最后一次蜕皮过程中完成，原变态（蜉蝣）保留了一次亚成虫期，完全变态（如蛾）保留了大部分的幼虫期，而将全部的稚虫期和亚成虫期压缩成蛹期[3,4]。因而可以说，蜻蜓与新翅类类似的变态过程很可能为平行进化的结果，不能据此认为它们的关系较近。

除蜉蝣和蜻蜓以外的有翅昆虫在停息时其翅是可以折叠起来而覆盖于胸腹部的背面。翅之所以能够折叠，主要原因是在翅的基部具有一系列骨片（如 3 块腋片和 1 块中片）和它们之间的折叠缝。当肌肉牵引第二腋片，就会使翅基骨片的位置发生改变并使它们进行折叠从而使翅折叠。蜉蝣与蜻蜓成虫的翅不能折叠是因为它们的翅基具两块较大的、由多块原始骨片愈合而成的骨板，一块在 C 脉基部，一块在 R 脉基部。正是由于骨片的愈合无法折叠而使翅不能折叠。但虽然形式类似，愈合成蜉蝣与蜻蜓翅基骨板的骨片来源和类型却是不同的，不能据此认为蜉蝣与蜻蜓关系较近[3,4,8]。

需要特别指出的是，在昆虫飞行过程中起主要作用的 R 脉、M 脉以及 Cu 脉在三类有翅昆虫翅基的愈合模式是不同的：蜉蝣与新翅类的一样，都是 R 脉与 M 脉在基部愈合或非常接近（图 1）[9]；而在蜻蜓中，M 脉却与 Cu 脉在基部愈合[10]。飞行过程极为复杂，对翅的要求极为苛刻，这种重大的改变似乎表明蜻蜓走了一条与其他有翅昆虫不同的进化道路。另外在蜻蜓中，其他几个重要的飞行要素（肌肉、骨片关节、动作）也与其他昆虫不同，如蜻蜓前后翅在飞行中是不同步的，而在蜉蝣和其他有翅昆虫前后翅在飞行过程中是同步的。但这些特征和证据都有待进一步研究和证明。

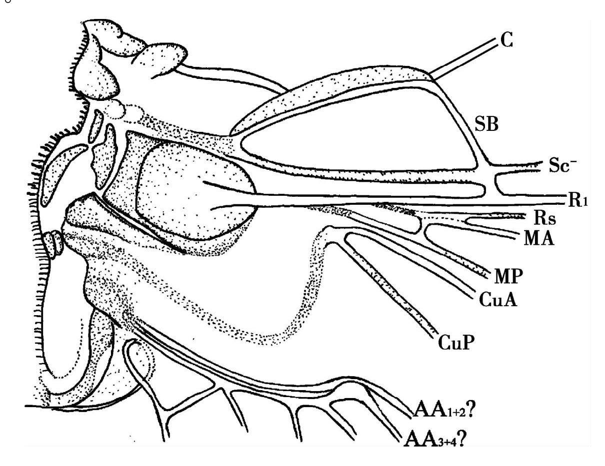


图 1　中国拟短丝蜉 *Siphluriscus chinensis* Ulmer 前翅基部背面观

示各脉的相对位置及愈合状况，不带点的为凸脉，带点的为凹脉；SB. subcostal brace，亚前缘脉弓，即肩横脉；图中字母表示不同的纵脉

总之，关于谁是有翅昆虫中最早分化出来的类群目前仍不明确。各种观点都有一些化石、形态甚至分子证据，但同时也都有各种反对意见。可能的原因包括：现生昆虫大多是高度特化的类群，一些原始特征（如翅基骨片等）已经很难辨认；同时，又由于长期进化，许多中间过渡类型灭绝，有翅昆虫内各目之间的特征间隔相对较明显，有时很难进行对比；再者昆虫种类繁多，各种适应型都可能出现，对每种意见都可能找到相反的情况。

参 考 文 献

[1] Kristensen NP. Phylogeny of insect order. Annu Rev Entomol，1981，26：135-157

[2] Kristensen NP. Phylogeny of extant hexapods. Ch. 5. In：Naumann ID，Carne PB，Lawrence JF，et al，eds. The Insects of Australia：A Textbook for Students and Research Workers. 2nd ed. Melbourne：Melbourne Univ. Press，1991：125-140

[3] Kukalová-Peck J. Fossil history and the evolution of hexapod structures. In：Naumann ID，Carne PB，Lawrence JF，et al. eds. The Insects of Australia：A Textbook for Students and Research Workers. 2nd ed. Melbourne：Melbourne Univ. Press，1991：141-179

[4] Kukalová-Peck J. Arthropod Phylogeny and ‘Basal’ Morphological Structures. In：Fortey RA，Thomas RH，eds. Arthropod Relationships. Syst. Assoc. Spec. Vol. Ser. 55. London：Chapman & Hall，1997：249-268

[5] 周长发，周开亚．“古翅类”系统发育研究进展．动物分类学报，2003，28：192-195

[6] Boudreaux HB. Arthropod Phylogeny，with Special Reference to Insects. New York：John Wiley & Sons，1979，320

[7] 陈世骧．昆虫纲的历史发展．昆虫学报，1955，5：1-48

[8] Hennig W. Insect Phylogeny. Chichester：John Wiley & Sons，1981，515

[9] 周长发．蜉蝣翅基纵脉走向及愈合模式（昆虫纲：蜉蝣目）．昆虫学报，2007，50：51-56（英文稿）

[10] Riek EF，Kukalová-Peck J. A new interpretation of dragonfly wing venation based upon early upper Carboniferous fossils from Argentina（Insecta：Odonatoidea）and basic character states in pterygote wings. Can J Zool，1984，62：1150-1166

撰稿人：周长发

南京师范大学

审稿人：周开亚　杨　定

昆虫的翅及飞行能力从何而来?

The Origin of Insect Wing and Flight

昆虫是无脊椎动物中唯一有翅能飞的生物。它们翅的特点一般为膜质、轻巧、坚韧、能折叠，只有基部有肌肉和骨片附着但能量强大，可以为昆虫飞行提供所有必需的动力和技巧。由于翅是如此精巧，飞行是如此灵活，它们的起源和进化一直是引人入胜的课题之一。

翅究竟起源于身体的什么构造? 利用形态学和发育学证据，科学家们提出过种种假说，如翅可能起源于侧背板、气门瓣、针突、气管鳃、鳃盖、肢突，等等[1,2]。

侧背板是昆虫各体节背板侧面的突起，结构上类似于固定翼飞机的机翼。随着进化，侧背板逐渐能活动进而发展成为能自由拍打的翅。这就是翅起源于侧背板假说的主要内容。然而，化石证据表明原始的具翅昆虫的翅基就有关节。个体发育信息表明翅来源于胸部的侧壁而非背板。生理学研究显示，飞行时部分腹部神经节与胸部的一样也具有类似的神经冲动，这说明翅或类似结构并非由胸部独有。胚胎学证据也证明一些昆虫腹部第一节侧面在发育的早期具有类似于翅的结构，这表明此结构不可能是由背板起源的。发育基因学证据显示翅的原基来源于足的原基而非背板原基，翅基关节起源于原始附肢[3,4]。把一种蛾类的翅芽原基移到背板后发现，其不但可以产生翅，而且可以产生翅基骨片。这种观点面临的另一大问题是不能很好地解释翅基复杂的关节及肌肉系统是如何从无到有并且配合精巧的[2]。

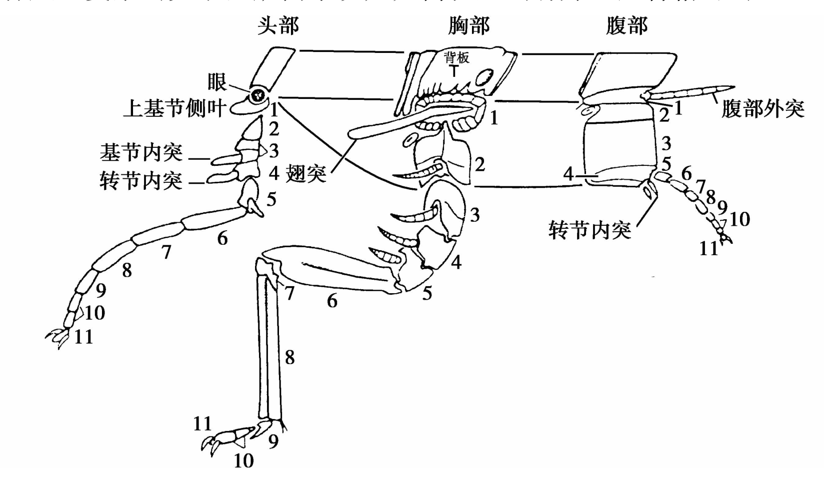


图 1　有翅昆虫的翅起源于附肢外突假说图解[5]

数字表示附肢的节数

也有人提出翅起源于原始附肢第一节——上基节（epicoxa）的外突（exite）[2,5]。从化石来看，原始昆虫的足或附肢可能最少有 11 节，每一节的内外侧又具数目不定的肢突（ramus）。现存有翅昆虫的翅为原始附肢第 1 节的扁平外突（exite），而第 1 节本身成为围绕外突（或翅）的骨片。骨片共 32 块，组成 4 列 8 行，每一行对应于一对纵脉。每块骨片的结构和形状大体相似。原始附肢的第二节与侧板愈合。从第三节——基节（coxa）开始才是现今昆虫真正的足（图 1）。但也有人提出，昆虫的翅可能起源于双枝型附肢的外肢节（exopodite）[6]，或者是外突与内突（endite）的共同体[7]。无论如何，翅起源于附肢的假说很容易解释翅的活动能力以及飞行肌肉的起源问题，即是附肢原来就有的。然而这些假说都无法得到直接证明。

飞行能力的获得　有翅并不表明昆虫就能飞，这就如人插上翅膀并不能飞行一样。这里存在一个翅如何获得飞行能力的问题。原始的翅小而弱，不可能具有飞行能力，也不可能一开始就用于飞行，尤其是主动的拍打式的飞行动作，这需要长期的适应和进化过程。

早期有人提出滑翔可能是早期翅的功能和古昆虫主要的飞行动作。该观点主要认为具原始固定翅的昆虫通过某种方式，如跳跃、风吹、寻找食物等原因上到高处，在落下过程中，原始翅可能具有一定的保护功能，可以滑翔。久而久之，具这种优势的昆虫的原始翅就逐渐变大、变宽成真正的翅。翅基的关节及肌肉随后生成，原始的翅就逐渐变成真正的翅，同时也具有了飞行的能力。然而，这种观点不能很好地解释翅基复杂的关节系统及肌肉是如何从无到有并且相互配合的。也有人认为，滑翔耗能极少而且适应性极差，不能很好地解释主动飞行能力的起源。

在“翅起源于附肢突起”假说中，因原始翅为附肢的附肢，因而本身就具有关节和肌肉系统。在它们的作用下，原始的翅可能具有一定的拍打能力。当然也可能有其他的作用，如像鳍那样具有游泳、保护用来呼吸的鳃并搅动水流、拍动以协助逃避敌害或扩散或求偶展示、调节体温等功能[8]。昆虫在空气中飞行的状况与鳍在水中游类似。也许在长期进化条件下，原始翅的拍打功能和极弱的飞行能力得到强化，进而发展成真正的翅。但根据飞行动力学原理，有人认为原始翅不可能产生飞行所需要的动力和要求。

有研究观察到，一种短翅不飞行的石蝇（襀翅目 Plecoptera）成虫可以用足及身体停留在水面上。当有捕食者来临时它们就拍打短翅，通过在水面滑行来逃避敌害。还有人观察到，一种石蝇成虫可用它们的翅做类似船帆那样的鼓风滑行。据此可认为原始有翅昆虫的稚虫生活于水中，成虫生活于水边或水中的低矮植物中。当有敌害时，就通过拍打原始翅的方式在水面滑行来逃避。当翅加长加宽、拍打频率加大、翅基的关节骨片及肌肉进一步协调一致后，可能就会具有一定的飞行能力[9]。

研究有翅昆虫翅及飞行能力的起源十分困难。因为进化过程无法再现，只能提供间接证据和假说；化石昆虫翅基等保存状况一般极差，无法清晰识别；现存昆虫翅及飞行动作极为复杂多样，寻找统一模式十分困难；昆虫翅极为精巧灵活，飞行动力学极难模仿。

参考文献

［1］ 周长发，周开亚．“古翅类”系统发育研究进展，动物分类学报，2003，28：192-195

［2］ Kukalová-Peck J. Origin and evolution of insect wings and their relation to metamorphosis，as documented by the fossil record. J Morphol，1978，156：53-126

［3］ Averof M，Cohen SM. Evolutionary origin of insect wings from ancestral gills. Nature，1997，385：627-630

［4］ Cohen B，Simcox AA，Cohen SM. Allocation of the thoracic imaginal primordia in the *Drosophila* embryo. Development，1993，117：397-608

［5］ Kukalová-Peck J. Fossil history and the evolution of hexapod structures. In：Naumann ID，Carne PB，Lawrence JF，et al. eds. The insects of Australia：A Textbook for Students and Research Workers. 2nd ed. Melbourne：Melbourne Univ. Press，1991，141-179

［6］ Rasnitsyn AP. A modified paranotal theory of the insect wing origin. J Morphol，1981，168：331-338

［7］ Trueman JWH. Evolution of insect wing：a limb exite plus endite model. Can J Zool，1990，68：1333-1335

［8］ Kingsolver J G，Koehl MAR. Selective factors in the evolution of insect wings. Annu Rev Entomol，1994，39：425-451

［9］ Marden JH. Flying lessons from a flightless insect. Natural History，1995，2（95）：6-8

撰稿人：周长发

南京师范大学

审稿人：周开亚　杨　定

深部地下生物圈有多大?

How Large of Biosphere in Deep Subterranean?

生物圈是指地球上存在生命活动的地域的整体[1]。普遍认为，生物主要栖息于地球外层地壳及以上部分。然而，随着科学技术的发展，越来越多的证据表明，在地壳深处，存在一个我们至今知之甚少的独特的深部地下生物圈。

所谓地下，主要指植物根系以下，即距离表层土壤约 8m 以深的空间；而“深部地下”，常指地表 180m 以下乃至 1000m 以下的空间。深部地下通常是缺乏光照、高温、缺氧、并且含水量极少的恶劣环境，因此，在很长时间里，人们都认为那里不可能存在生命。1940 年，苏联科学家 Issatchenko 在对 20 多个深钻油井的流出液进行分析后，证实在地下 2000m 处仍有微生物，同时提出地下 2000m 可能就是深部地下生物圈的下限[2]。早在 20 世纪初，科学家们就开始坚持不懈地努力探索地球深部可能存在的生命，并对人类在地球上已经打出的数以万计的钻孔（这些钻孔既有用于科学考察的“大洋钻探计划”、“大陆钻探计划”的钻孔，也有用于开采天然气、石油的钻孔）以及各类矿井、洞穴里的生命活动进行了大量研究。这些研究的共同结论是，在深埋数百万年的深部地下沉积物和岩石中存在一个覆盖全球的深部生物圈，大量的微生物在那里生活和繁衍，估算其生物量达到地表所有生物量总和的 1/10～1/3，即占全球微生物生物量总和的 1/2～5/6[3]。

地质学研究告诉我们，地下温度随着深度的增加而升高，一般情况下，深度每增加 1000m，温度上升 20～30℃。对于微生物而言，决定其存活的最关键因素，不是深度、压力，也不是有机物的含量，而是温度。目前已知生物的最高生长温度为 121℃。因此，在距地面 4000～8000m 深处仍可能存在生命，也就是说，地下生物圈的下限应该是地下 4000～8000m[4]。2007 年，DeFlaun 等在南非金矿地下约 3200m 处分离获得了嗜热细菌 *Geobacillus thermoleovorans*[5]。2008 年，Roussel 等从来自海底以下约 1600 m 的矿样中也发现了微生物，推测它们能耐受 60～100℃的高温[6]。尽管有这样一些发现，深部地下生物圈的下限至今依然是一个谜。

深部地下生物圈的发现，激发了人们对这一未知微生物世界的好奇心。位于深部地下生物圈的微生物，与地表环境相对隔绝，生存于与地球生命刚诞生时类似的高温、高压、无氧环境中。它们中的一部分是否有可能是自太古时代就被封存在那里的微生物？这些微生物是否与地球生命的共同祖先有关？既然在深部地下如此恶劣的环境下也有生命存在，那么在火星、木星等地外星球的极端环境中，是否也能孕育生命？目前已经获得的深部地下微生物，主要是硫酸盐还原菌、产甲烷菌、金

属（如铁、锰）还原菌以及嗜甲烷菌等。更多微生物的生理代谢特点以及地球生物化学作用尚属未知。2008年，Chivian等采用分子生物学方法，直接从南非金矿地下2800m裂沟水样中提取微生物DNA。对其进行序列测定和解读后发现，在这个样品中竟然只生活着一种被命名为*Candidatus Desulforudis audaxviator*的细菌（绰号“勇敢的旅行者”）。这一发现对于地表环境来说是无法想象的，它意味着这种微生物必须完全自给自足，这也是世界上发现的唯一一个由单一物种构成的微生物群落。对该细菌的基因组分析表明，它果然拥有实现自给自足生活所需要的所有基因，并提示这种细菌有可能在穿越缝隙进入岩石层的过程中，通过基因水平转移获得了大量古菌基因而逐渐完成了其进化过程[7]。这一发现也让致力于寻找地外生命的天体生物学家为之兴奋。天体科学家认为，尽管太阳系其他星球表面环境条件异常恶劣，但一些星球的内部可能存在与地球深部相似的条件，那里也可能栖息着与地球深部微生物具有相似能量代谢机制的生命[8]，而*Candidatus Desulforudis audaxviator*所具有的独特的“自力更生”的生存能力，使人们甚至猜测它们有可能生存在火星上。

呈现在人们面前的深层地下生物圈，既可能是一个存在了数百万年的古老的微生物世界，又是一个未知的、全新的微生物世界，众多的科学家都痴迷于这一新领域的研究，并取得了长足的进展，越来越多的深部地下微生物被分离培养，越来越多的深部地下微生物基因被克隆分析。但对于它们的研究，依然还是局部的、非系统的，获得的知识还非常有限。很多问题还没有答案，例如：深部地下微生物是如何起源和进化的？它们是在地球生命形成时就一直封闭生活在那里，还是经过数百万年的时间从地表逐渐渗透扩散进入地下环境的？它们的群落结构怎样，由单一种构成的微生物生态群落是普遍存在的还是特例？由多种微生物构成的地下微生物种群间是如何协同生存的？它们的能量代谢过程和特点是什么？已经证实基因水平转移在深部地下生物圈中同样发生[9]，基因水平转移在该环境中的生态意义是什么？还有，深部地下微生物在地球物质循环中的作用是什么？等等。而最大的谜依然是：深部地下生物圈究竟有多大？

参考文献

[1] Vernadsky V. The Biosphere. New York：Copernicus，1926

[2] Issatchenko V. On the microorganisms of the lower limits of the biosphere. J Bacteriol，1940，40（3）：379-381

[3] Teske A，Sorensen KB. Uncultrued archaea in deep marine subsurface sediments：have we caught them all? ISME J，2008，2：3-18

[4] Kimura H，Ishibashi JI，Masuda H，et al. Selective phylogenetic analysis targeting 16S rRNA genes of hyperthermophilic archaea in the deep-subsurface hot biosphere. Appl Environ Microbiol，2007，73（7）：2110-2117

［5］ DeFlaun MF，Fredrickson JK，Dong H，et al. Isolation and characterization of a *Geobacillus thermoleovorans* strain from an ultra-deep South African gold mine. Sys Appl Microbiol，2007，30：152-164

［6］ Roussel EG，Bonavita MAC，Querellou J，et al. Extending the sub-sea-floor biosphere. Science，2008，320：1046

［7］ Chivian D，Brodie EL，Alm EJ，et al. Environmental genomics reveals a single-species ecosystem deep within earth. Science，2008，322：275-278

［8］ Guerrero R. Crucial crises in biology：life in the deep biosphere. Internatl Microbiol，1998，1：285-294

［9］ Coombs JM. Poterntial for horizontal gene transfer in microbial communities of the terrestrial subsurface. In：Gogarten MB et al. Horizontal gene transfer：genomes in flux. 2009，532：413-433

撰稿人：戴　欣

中国科学院微生物研究所

审稿人：黄　力　东秀珠

环境微生物群落中的基因交流

Gene Exchange in Environmental Microbial Communities

经典微生物学将遗传突变和新基因合成看成是微生物进化的主要推动力。不认为微生物群体中存在着遗传物质的交流。这也就是说，微生物基因组是非常稳定的。根据上述理论，微生物基因组的进化过程应该是一个非常缓慢的过程。然而，微生物遗传学的研究却显示，微生物具备从环境中摄取遗传物质的能力，摄取遗传物质的途径包括转化（transformation，直接摄取裸露的 DNA 分子），转导（transduction，由噬菌体介导）和接合（conjugation，由接合型质粒介导）。此外，早在 20 世纪 50 年代，科学家们就发现，由于抗生素广泛用于人类及各种动物的疾病治疗，各种抗生素的抗性在微生物种群中迅速扩散开来。并且，与病原菌亲缘关系较远的、未经抗生素处理的微生物同时获得了多种抗性[1]。这些现象无法用经典微生物学的遗传突变和新基因合成学说来解释。随后的研究发现，这种多重抗性性状的扩散，是携带有多抗基因的质粒在这些微生物种群中扩散所致[1]。然而，科学家们对这一现象的普遍性远远认识不足。直到四十多年以后，也就是 20 世纪 90 年代，随着 DNA 测序技术的长足进步，几十种微生物全基因组序列在相对短的时间内得以完成，才引起了普遍的关注。这些研究成果促进了一个新兴学科，即基因组学的发展。基因组学研究的重大成就之一就是，发现微生物基因组并不像经典微生物学所认为的那样稳定；恰恰相反，亲缘关系较近的微生物基因组有着很大的差异，而亲缘关系较远的微生物基因组又出现了同样或者十分相近基因或基因族[2,3]。这些现象只能用微生物间遗传物质的交换，即水平基因转移来解释。

水平基因转移（horizontal gene transfer，HGT），又称侧向基因转移（lateral gene transfer，LGT），是指在差异生物个体之间，或单个细胞内部细胞器之间所进行的基因交流并稳定遗传下去的现象。在细胞起源的过程中，HGT 就起了重要的作用[4]。在当代微生物学中，HGT 是一种非常重要的生物学现象，因为它不仅是现代微生物育种、分子生态学、微生物进化及系统发育学的奠基石，而且对生物技术和微生物病原菌学的研究以及细菌传染病的控制有重大影响。这是因为，和经典纵向遗传不同，HGT 可以使微生物一次性获得大量的可遗传性状。这样，只能无性繁殖的微生物也具备了和有性繁殖真核生物同样的优势。从生物工程研究的角度上来说，遗传物质的水平转移可使微生物获得许多优良性状和应用潜力。当然，HGT 也能引起重大的社会问题，例如，目前业已证实，由致病基因组成的致病基因岛可以转移[5]，这意味着非致病菌可以通过基因的水平转移获得致病基因岛，从

而演变成致病菌。同样，抗生素的多抗性也可在不同的微生物种群中转移，由此衍生出来的多抗致病菌，可称为“超级致病菌”，将会成为威胁人类健康的一大灾难。因此，研究基因水平转移的机制对于怎样应用这一生物学机制为生物学产业服务，怎样防范“超级致病菌”的产生，具有重大意义。

如前所述，微生物可以通过转化、转导、接合三种方式获得外源遗传物质，目前对于这些分子生物学过程也已了解。进入受体细胞的遗传物质可通过三条途径稳定存留在细胞中，表达成宿主有用的基因产物并能纵向遗传给子代，能自主复制而独立存在于细胞中；通过转座因子的介导插入染色体中；通过同源重组整合进染色体中。生物信息学研究显示，细菌和古菌的基因组中携带着许多水平基因转移的产物[6]。

现在摆在我们面前的难题是：微生物群落中遗传物质的交换究竟有多么频繁？目前科学家们对此并未达成共识。有许多证据指明，微生物种群间的遗传物质交换十分频繁，染色体的组成极不稳定，因此有人提出，传统分类学中“种”的概念和划分标准可能要重新考虑[7]，是否真是这样呢？显然，存在于基因组上的基因必须包装成可转移的形式，然后才能转移，那么可作为横向转移的基因资源是以什么形式存在于生态环境中的？特别是转化过程中涉及的是裸露的 DNA 分子，它们是以什么形式存在于环境中才能保持其生物活性？广泛存在于自然界的遗传因子（病毒或质粒）本身就是移动基因资源的一部分，它们在自然环境中存在的数量究竟有多少？它们如何在自然条件下发挥 HGT 功能？已有研究显示，病毒粒子以十倍于微生物细胞的数量存在于水生环境中。而在土壤环境里也大量存在着不同的质粒和病毒。更为有趣的是，无论是细菌还是古菌，其质粒和病毒都显示出很丰富的生物多样性[8,9]。这一特性使得这些遗传因子具备了作为移动基因资源载体的条件。然而，目前我们对这些遗传因子多样性的了解，很可能只是冰山一角。因此，要弄清微生物种群间的遗传物质交换的频率和所有机制，以及它们在基因横向转移和生物进化中的作用，尚有很多科研工作要做。

参 考 文 献

[1] Davies J. Origins and evolution of antibiotic resistance. Microbiologia，1996，12：9-16

[2] Doolittle WF. Phylogenetic classification and the universal tree. Science，1999，284：2124-2129

[3] Ochman H，Lawrence JG，Groisman EA. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. Nature，2000，405：299-304

[4] Woese CR. On the evolution of cells. Proc Natl Acad Sci U S A，2002，99，8742-8747

[5] Dobrindt U，Hochhut B，Hentschel U，et al. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. Nat Rev Microbiol，2004，2：414-424

[6] Cortez D，Forterre P，Gribaldo S. A hidden reservoir of integrative elements is the major source of recently acquired foreign genes and ORFans in archaeal and bacterial ge-

nomes. Genome Biol，2009，10：R65

［7］ Bohannon J. Confusing kinships. Science，2008，320：1031-1033

［8］ Norman A，Hansen LH，Sørensen SJ. Conjugative plasmids：vessels of the communal gene pool. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci，2009，364：2275-2289

［9］ Frost LS，Leplae R，Summers AO，et al. Mobile genetic elements：the agents of open source evolution. Nat Rev Microbiol，2005，3：722-732

撰稿人：佘群新
丹麦哥本哈根大学
审稿人：冯　婕　沈　萍

耐辐射球菌何以能够耐受高剂量辐射?

How Does *Deinococcus radiodurans* Survive
an Intense Dose of Ionizing Radiation?

耐辐射球菌（*Deinococcus radiodurans*）是目前已知抗辐射能力最强的生物之一。1956 年，美国科学家 Anderson 等从经 4000Gy 的 X 射线辐照灭菌后的牛肉罐头中分离到一株具有令人惊奇的极端电离辐射抗性的菌株，将其命名为耐辐射球菌 R1。据报道，5000Gy 的急性伽马射线辐照对耐辐射球菌的生存率几乎没有影响，甚至可以在 15 000Gy 的急性电离辐照后生存，而人体在经受 6Gy 的辐照后死亡率为 100%[1]。耐辐射球菌这个特性使其成为在高辐射环境中进行生物修复的潜在生物资源，因而引起了科学家们的极大兴趣[2]。耐辐射球菌为什么能够忍受如此极端的辐射胁迫？半个世纪以来，科学家们一直试图揭开这种极端而神秘的强辐射耐受力的秘密，以期获得一些有价值的科学线索。

线索 1：多拷贝基因组。耐辐射球菌是一种含多拷贝基因组的细菌，通常含有 4～10 个基因组拷贝。有人认为，冗余的基因组拷贝可能为同源重组修复的进行提供更多模板[3]。然而，含有 4～18 个基因组拷贝的大肠杆菌却不能在 200Gy 的电离辐照之后存活，可见多拷贝的基因组可能不是耐辐射的关键原因[1]。

线索 2：环形类核结构。2003 年，人们利用透视电子显微镜观察到耐辐射球菌拥有致密的环形类核结构[4]，并认为这种致密环形结构可以阻止辐照造成的 DNA 双链断裂片段扩散，有利于 DNA 修复高效地进行，因而对极端抗性起重要作用。但是，也有研究人员通过比较耐辐射球菌属中的七个种的辐射抗性和类核结构，发现另外两个抗性很强的种的类核并没有类似的环形结构，因而认为类核环形结构对耐辐射球菌属的辐射抗性并非必需[1]。

线索 3：抗氧化能力。电离辐射对 DNA 的损伤大部分是由电离辐射产生的自由基造成的。因此，超强抗氧化能力对极端电离辐射抗性很重要。研究人员发现耐辐射球菌细胞内含有高浓度的二价锰离子，高含量的锰离子并不能阻止电离辐射对 DNA 的损伤[5]，但可以在由电离辐射造成的氧化胁迫下保护细胞蛋白，其机制尚不清楚[6]。另外，耐辐射球菌含有大量结构特殊的类胡萝卜素，该类胡萝卜素清除自由基的能力高于其他来源的类似物，因此它们也可能贡献于极端抗性[7]。

线索 4：高效 DNA 修复系统。耐辐射球菌有多种可能有助于极端辐射抗性的耐受系统。现有证据已经确凿地表明，电离辐射会造成 DNA 损伤，包括 DNA 双

链断裂和单链断裂，而拥有高效 DNA 修复系统是耐辐射球菌比其他物种更抗辐射的关键[1]。DNA 双链断裂是电离辐射、干燥以及 DNA 交联剂产生的重要 DNA 损伤形式，对细胞生存威胁最大。耐辐射球菌可以在几个小时内把断裂成几百个片段的基因组 DNA 准确地修复，而大肠杆菌则只能修复含有几个双链断裂的基因组[1]。在耐辐射球菌内可能存在四种修复途径来应对 DNA 双链断裂，包括同源重组修复、延伸合成依赖链退火、单链退火和非同源末端连接[7]。同源重组是细菌进行双链断裂修复的一种重要手段，它在耐辐射球菌 DNA 修复中扮演了非常重要的角色。然而，人们通过分析耐辐射球菌基因组信息发现，该细菌参与重组修复途径的基因与辐射敏感类的细菌相比也并无特别之处。也许是某些功能未知的基因提高了 DNA 修复的效率。最近，人们在这个细菌中发现了一种全新的 DNA 修复模式，被称为延伸合成依赖的链退火修复，为了解耐辐射球菌高效的 DNA 修复机制提供了重要线索[8]。但是，这个新的 DNA 修复途径的许多细节还不清楚。非同源末端连接是真核生物中应对 DNA 双链断裂的一种重要途径，而其是否在耐辐射球菌中存在尚无直接的试验证据[7]。

线索 5：功能未知基因的贡献。耐辐射球菌 R1 的全基因组测序在 1999 年由美国联合基因组研究所完成[9]。该菌的基因组包括两个染色体和两个质粒，其大小分别为 2.65Mb、412kb、177kb 和 46kb，GC 含量高达 66.6%，预计编码 3195 个基因，而其中超过 1000 个的基因是未知功能的。这些新基因可能贡献于该细菌的极端电离辐射抗性，或是参加了快速的 DNA 损伤响应，或是高效 DNA 修复系统的一部分，或是贡献于强大的抗氧化能力[1,3,9]。研究这些功能未知的基因有助于一些全新的 DNA 损伤响应和修复机制或者一些对细胞具有保护作用的抗逆因子的发现。

耐辐射球菌可以耐受 15 000Gy 剂量的电离辐射，然而如此之高的辐射剂量在地球上从未出现过，那么这个细菌何以练得如此本领？人们对该细菌的起源与进化也表现出浓厚的兴趣[10]。有人提出了地球生命的外星球起源假说，认为这种耐辐射的细菌可能是随陨石而来到地球的。也有人提出，耐辐射球菌的辐射耐受能力可能与其同时具有的抗干燥能力的进化是相关的，因为干燥也会造成严重的 DNA 损伤，因而需要一套系统来修复损伤的 DNA。然而，生物进化过程是漫长而复杂的，至今尚没有很好的模拟实验或其他线索回答耐辐射球菌的起源。

总之，五十多年的研究不断发现了与耐辐射球菌的极端电离辐射抗性相关的线索，然而单独的某个假说都难以成功解释这种极端抗性。耐辐射球菌的极端抗性应该是该细菌在保护、响应以及修复等各方面完美进化的结果（图 1），其中真正的谜底还有待更多深入的研究来揭示。

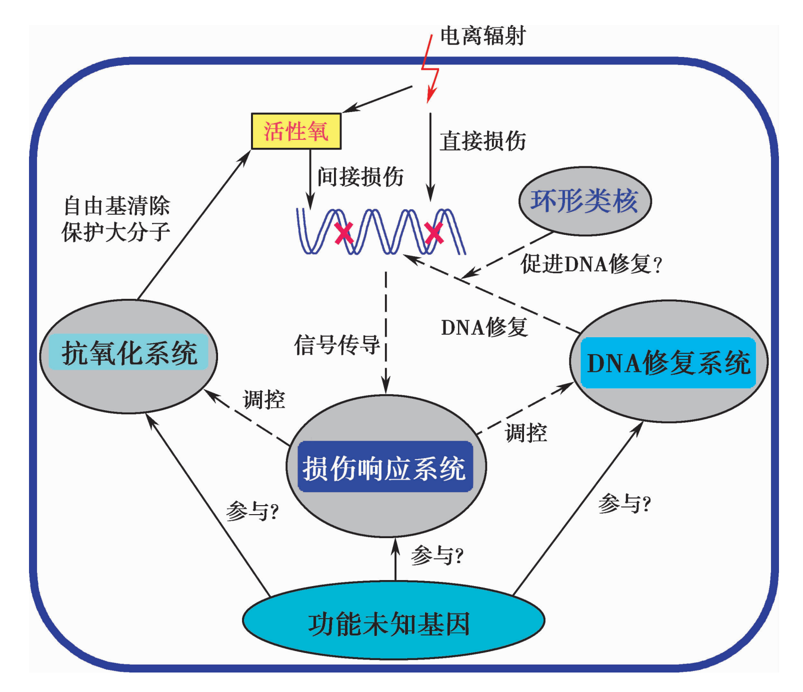


图 1　耐辐射球菌 DNA 损伤响应与修复示意图

参 考 文 献

[1] Cox M，Battista J. *Deinococcus radiodurans*： the consummate survivor. Nat Rev Microbiol，2005，3：882-892

[2] Lange C，Wackett L，Minton K，et al. Engineering a recombinant *Deinococcus radiodurans* for organopollutant degradation in radioactive mixed waste environments. Nat Biotechnol，1998，16：929-933

[3] Makarova K，Aravind L，Wolf Y，et al. Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. Microbiol Mol Biol Rev，2001，65：44-79

[4] Levin-Zaidman S，Englander J，Shimoni E，et al. Ringlike structure of the *Deinococcus radiodurans* genome：a key to radioresistance? Science，2003，299：254-256

[5] Daly M，Gaidamakova E，Matrosova V，et al. Accumulation of Mn（II）in *Deinococcus radiodurans* facilitates gamma-radiation resistance. Science，2004，306：1025-1058

[6] Daly M，Gaidamakova E，Matrosova V，et al. Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance. PLoS Biol，2007，5：e92

[7] Blasius M，Sommer S，Hubscher U. Deinococcus radiodurans：what belongs to the survival kit? Crit Rev Biochem Mol Biol，2008，43：221-238

［8］ Slade D，Lindner A，Paul G，et al. Recombination and replication in DNA repair of heavily irradiated Deinococcus radiodurans. Cell，2009，136：1044-1055
［9］ White O，Eisen J，Heidelberg J，et al. Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1. Science，1999，286：1571-1577
［10］ Pavlov A，Kalinin，V，Konstantinov A，et al. Identification of Martian biota using their radioresistance ability and specific isotopic composition. Geophysical Research Abstracts，2003，5：11784

撰稿人：华跃进　陆辉明
浙江大学
审稿人：林　敏　黄　力

为什么不同种类植物的叶片排列顺序不同?

Why Do Different Plant Species Show Different Leaf Arrangements?

千姿百态的植物叶片赋予大自然以多姿多彩和盎然生机。不同种类植物的叶片除了具有不同的形状外，在植物茎上的排列顺序（叶序）也有所不同，而植物的叶序决定了整株植物地上部的形态及功能。

植物叶片的发育受严格的时空调控，叶片在茎上的空间排列称为叶序（phyllotaxy）。在植物的茎轴上，叶子有序地排列，每个叶原基与下一个叶原基之间有一定的角度，所以叶片排列具有一定的几何图形。植物的叶序可分为螺旋、互生、对生、轮生等类型（图1）。螺旋和互生叶序都是在每个节发育1个叶片，螺旋叶序随后发育的叶原基在沿茎轴螺旋位移约137°的位置，而互生叶序随后发育的叶原基在茎的对应面。对生叶序是每个节发育出2个叶片，包括二分对生（distichous）和交互对生（decussate）两种，二分对生叶序每1对在前1对叶的直接上方形成，交互对生叶序每1对叶与前1对叶成直角排列。轮生叶序在每个节发育出3个以上叶片。最常见的是螺旋叶序。有趣的是，虽然我们已经了解植物的叶序类型，但目前还不能完全清楚地解释是什么因素决定和控制植物的叶序。

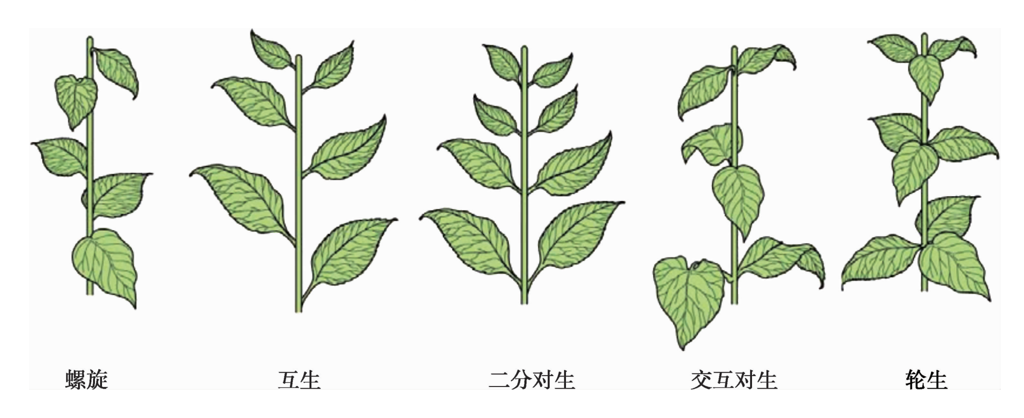


图1　植物叶序的类型

植物的叶片是在茎顶端分生组织中形成的。茎顶端分生组织包括中心区和周缘区，中心区由体积大、分裂缓慢的细胞组成，周缘区由体积较小、分裂迅速的细胞组成。叶原基是在周缘区起始的。早期的研究认为，在植物的茎顶端分生组织中，原基之间存在有“通讯”，已经存在的老的叶原基控制其附近区域内新原基的起始，新叶原基的发生部位受已经存在的老的叶原基的控制，这就是区域理论。区域理论

认为，已有的原基产生了化学抑制物质，能够抑制其周缘区域内新叶原基的起始。随后进行的切割实验证实了这一理论，即在老的叶原基与新叶原基之间进行切割，目的是阻断老叶原基与新叶原基之间的联系，从而抑制老叶原基所释放的抑制剂向新叶原基的运输，结果导致相邻原基出现错位。

在叶原基的形成过程中，一定浓度的生长素诱导是必需的[1]。生长素在茎顶端进行从基部向顶端的向顶极性运输，生长素的极性运输受生长素流出载体（auxin efflus carrier）的调控。由于在茎顶端生长素的极性运输使得局部生长素的浓度升高，高浓度生长素能够诱导叶原基的产生[2]。利用拟南芥生长素流出载体缺陷突变体（*pin 1*）或用生长素极性运输抑制剂 NPA 处理，可导致植株的叶序丧失。如果在 *pin 1* 突变体的顶端外用生长素处理，在处理部位有叶原基的起始。由此表明，生长素参与调控叶原基的起始，生长素作为叶的起始和发育信号起作用。那么，生长素的信号作用与老的叶原基产生的抑制物的关系是什么？

PIN1 是一类生长素流出载体，PIN1 蛋白在植物茎顶端分生组织的亚细胞定位决定茎顶端分生组织中生长素的运输方向。对 PIN1 蛋白的亚细胞定位的研究表明，在拟南芥茎顶端分生组织中，在叶原基形成前，PIN1 主要积累在表皮层（L1 层）细胞的外侧质膜中，生长素经过 L1 层细胞的外侧向顶运输到茎顶端分生组织，局部生长素浓度升高，高浓度生长素诱导叶原基的起始。在原基形成过程中，PIN1 积累的部位发生变化。在原基出现的早期，PIN1 积累在靠近原基的细胞一侧（即近轴面），导致生长素从周围细胞运输向原基的中心。一旦原基形成，此时，幼嫩的叶原基可作为生长素库，从周围区域吸收生长素，结果在相邻区域内形成一个生长素枯竭带。在一定区域内只有积累足够的生长素后才能有效刺激新原基的起始[3,4]。因此，并不是老的原基释放了抑制物，而是老的原基附近由于生长素类活性物的不足，使得老的原基周围存在一个叶原基发生的抑制区域。随着原基的伸长，PIN1 积累在远离原基的细胞一侧（即远轴面），从而引导生长素向叶片的顶端运输。在叶片形成后，PIN1 在叶维管束细胞的基部一侧积累，使得叶片中的生长素发生向外运输[5]。目前，对叶原基形成和发育过程中 PIN1 积累变化的调控机制还缺乏了解。

除了生长素外，细胞分裂素也参与调控叶序的发育。编码细胞分裂素诱导反应类型 A 调节因子（cytokinin-inducible type A response regulator）基因（*ABPH 1*）缺失突变体的叶序由二分对生叶序变为交互对生叶序[6]。然而，*abph 1* 突变体中 PIN1 的表达低于野生型，可见，*ABPH 1* 是 PIN1 表达的正调控子[7]。生长素信号和细胞分裂素信号共同调控叶序，*ABPH 1* 作为细胞分裂素信号的负调控子和生长素信号的正调控子起作用。

目前存在的问题是：①虽然生长素在叶原基形成中起关键作用，但对生长素的作用机制仍缺少令人信服的结论。目前在研究技术上存在较大难度，利用质谱技术

还难以在细胞和亚细胞水平直接测定激素的含量；利用免疫学方法的测定技术其特异性还不够精准[8]。②除生长素外，对其他激素作用的研究较少。

参 考 文 献

［1］ Vogler H，Kuhlemeier C. Simple hormones but complex signaling. Curr Opin Plant Biol，2003，6：51-56

［2］ Tanaka H，Dhonukshe P，Brewer PB，et al. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution：a means to coordinate plant development. Cell Mol Life Sci，2006，63：2738-2754

［3］ Benková E，Michniewicz M，Sauer M，et al. Local，efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. Cell，2003，115：591-602

［4］ Reinhardt D，Pesce ER，Stieger P，et al. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport. Nature，2003，426：255-260

［5］ Golz JF. Signalling between the shoot apical meristem and developing lateral organs. Plant Mol Biol，2006，60：889-903

［6］ Giulini A，Wang J，Jackson D. Control of phyllotaxy by the cytokimim-inducible response regulator homologue ABPHYL1. Nature，2004，430：1031-1034

［7］ Lee BH，Yu SI，Jackson D. Control of plant architecture：the role of phyllotaxy and plastochron. J Plant Biol，2009，52：277-282

［8］ Veit B. Hormone mediated regulation of the shoot apical meristem. Plant Mol Biol，2009，69：397-408

撰稿人：李颖章

中国农业大学

审稿人：武维华　韩玉珍

为什么植物根会向地性生长?

Why Do Plant Roots Grow Downward to the Earth?

植物的生长受地心引力（或重力）的影响。植物感受重力的刺激，在重力方向上发生生长反应的现象，称为向地性。植物茎总是发生负向地性（向上）生长，而根总是发生正向地性（向下）生长。为什么植物根会发生向地性生长?

研究表明，植物的向地性生长包括 3 个过程：①重力的感受；②重力信号的传导；③生长反应。

重力的感受最广泛接受的模型是淀粉体-平衡石假说[1]。淀粉体-平衡石假说认为根冠是根向地性生长所必需的，根冠柱状细胞中的淀粉体在重力场下的沉降介导了根部重力信号的感受，这些淀粉体被称为平衡石。根冠柱状细胞与周围细胞明显不同，具有高度的极性，细胞核处在细胞的中、上端，细胞质分为明显的上、下两部分，细胞的中间带存在有动态的微丝骨架，在微丝的引导下平衡石沿着特定的轨迹沉降。缺少平衡石的拟南芥突变体不发生向地性生长反应[2]。

感受重力后，信号传导至根的伸长区，引起伸长区细胞发生不同的生长反应。Cholodny-Went 假说认为，生长素是转导重力的主要信号，生长素在植物根部的不对称分布，诱导根的向地性生长。生长素的不对称分布与根部细胞中介导生长素进入和流出细胞的生长素流入载体（auxin influx carrier）和生长素流出载体（auxin efflus carrier）的分布有关。AUX1 和 PIN 分别代表一类生长素流入载体和一类生长素流出载体，利用免疫组化技术对拟南芥根的研究证明，PIN2、PIN3 和 AUX1 参与根的向地性反应。PIN2 主要定位于伸长区表皮细胞的基部质膜上，AUX1 定位于侧根冠和表皮细胞中。PIN2 和 AUX1 介导生长素从根冠柱状细胞向基运输到伸长区表皮细胞的过程[3]。PIN3 蛋白定位在根冠柱状细胞中，介导生长素向侧根冠的运输。当根处于水平方向时，受重力刺激，PIN3 蛋白发生重新定位，迅速积累在细胞新的基部一侧[4,5]。PIN3 调控生长素运输到较下侧的侧根冠，然后，PIN2 和 AUX1 运输生长素到伸长区的下侧细胞中（图 1）。由于根的下侧积累了高于最适浓度的生长素而导致根下侧伸长生长受到抑制，根的上侧伸长生长较快，从而导致根发生向下弯曲生长。利用拟南芥突变体进行的实验，为该结果提供了有力的证据。例如，在编码 PIN2、PIN3 和 AUX1 蛋白缺失的 *pin 2* 、*pin 3* 、*aux 1* 的三种突变体内，生长素的不对称分布均消失，结果都导致突变体根的向地性生长丧失，根无定向生长[6]。

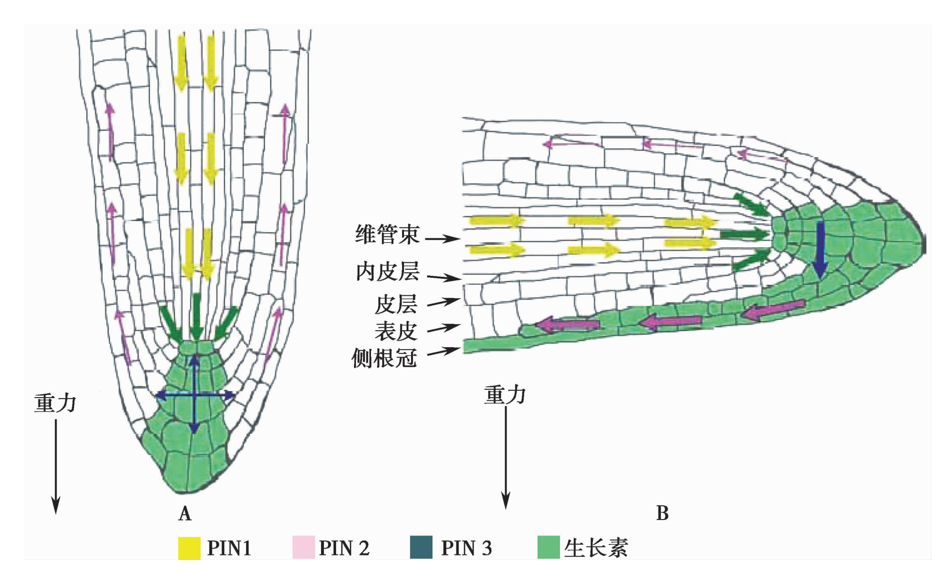


图 1　生长素流出载体 PIN 介导的植物根中生长素极性运输

当根沿重力方向生长时，生长素以辐射对称方式运输（A）；当根处于水平方向时，在重力作用下，生长素发生不对称再分配，更多的生长素积累在根的下侧（B）[6]。浅绿色代表生长素的积累部位，箭头代表生长素在 PIN1（黄色）、PIN2（粉色）和 PIN3（蓝色）作用下的运输方向

淀粉体-平衡石假说和 Cholodny-Went 假说在许多植物中被证实[7]。目前问题的焦点在于：响应重力刺激发生的平衡石移动与 PIN3 的重新定位的因果关系还没被证实。研究表明，Ca^{2+}、pH、IP_3 和细胞骨架作为信号也参与根的向地性反应[8,9]。Ca^{2+} 信号启动了生长素的侧向运输[10]。但目前对这些信号参与的信号转导机制还完全不清楚。

对植物向地性反应机制的深入研究，阐明植物根冠如何将生物物理信号转化为生物化学信号，信号如何从感受部位传递到根的伸长区引起向地性弯曲生长，何种机制导致生长素的不对称分布等一系列问题，将有助于人类认识重力的生物学意义，有助于人类尽早认识太空失重环境对植物生长发育的影响。

参 考 文 献

［1］ Sack FD. Plastids and gravitropic sensing. Planta，1997，203：S63-S68

［2］ Kiss JZ，Wright JB，Caspar T. Gravitropism in roots of intermediate-starch mutants of *Arabidopsis*. Physiol Plant，1996，97：237-244

［3］ Swarup R，Kramer EM，Perry P，et al. Root gravitropism requires lateral root cap and epidermal cells for transport and response to a mobile auxin signal. Nat Cell Biol，2005，7：1057-1065

［4］ Friml J，Winiewska J，Benková E，et al. Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. Nature，2002，415：806-809

［5］ Harrison BR，Masson PH. ARL2，ARG1 and PIN3 define a gravity signal transduction pathway in root statocytes. Plant J，2008，53：380-392

［6］ Tanaka H，Dhonukshe P，Brewer PB，et al. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution：a means to coordinate plant development. Cell Mol Life Sci，2006，63：2738-2754

［7］ Esmon CA，Tinsley AG，Ljung K，et al. A gradient of auxin and auxin-dependent transcription precedes tropic growth responses. Proc Natl Acad Sci USA，2006，103：236-241

［8］ Chen R，Guan C，Boonsirichai K，et al. Complex physiological and molecular processes underlying root gravitropism. Plant Mol Biol，2002，49：305-317

［9］ Perbal G. From roots to GRAVI-1：twenty five years for understanding how plants sense gravity. Micro Sci Technol，2009，21：3-10

［10］ Hou G，Kramer VL，Wang YS，et al. The promotion of gravitropism in *Arabidopsis* roots upon actin disruption is coupled with the extended alkalinization of the columella cytoplasm and a persistent auxin gradient. Plant J，2004，39：113-125

撰稿人： 李颖章

中国农业大学

审稿人： 武维华　韩玉珍

为什么生长素在体细胞胚胎发生中有不同功能？

Why Does Auxin Play Different Roles during Somatic Embryogenesis?

体细胞胚胎是指植物的体细胞或配子体细胞经过体外诱导培养后，发育形成胚性细胞，胚性细胞随后再发育形成体细胞胚胎。诱导体细胞形成体细胞胚胎的过程称为体细胞胚胎发生。体细胞胚胎发生是离体的体细胞无性繁殖的一种形式。体细胞胚胎发生和合子胚胎发生有相同的基因表达模式和相似的发育途径，即都需经历球形期、心形期、鱼雷形期和子叶形期的胚胎发育过程。在许多植物中被证实体外培养能诱导体细胞胚胎发生。

体细胞胚胎发生过程可分为两个阶段：诱导期和表达期，两个时期相互独立，并受不同因素的影响。诱导期是胚性细胞的分化和增殖期，表达期是胚性细胞发育为体细胞胚胎时期。诱导期是由体细胞过度到胚性细胞的关键时期，生长素是调控体细胞胚胎发生的关键因素，内源生长素水平的时空变化是诱导体细胞胚胎发生的首要信号[1]。

在体细胞胚胎发生的诱导期，培养基中含有高水平的生长素，促进胚性细胞的分化和增殖。在体细胞胚胎发生的表达期，将胚性细胞转移到含低水平生长素或不含生长素的培养基上，更有利于体细胞胚胎的发育。体细胞胚胎发生过程对生长素的需求有明显不同：在诱导期，高水平外源生长素促进了内源生长素水平的增加，从而诱导培养细胞的胚性反应[2]。胚性反应反过来也刺激细胞内生长素的生物合成[3]。胚性细胞形成后，胚胎的进一步发育受生长素极性运输的调控。生长素的极性运输受生长素流出载体（auxin efflus carrier）的调控，生长素流出载体是由 *PIN* 基因编码的一类跨膜蛋白[4]。其中，PIN1 为生长素梯度的建立和维持所必需，PIN7 为胚胎早期顶端结构发育所必需[5]。在胚胎第一次分裂形成二细胞期，PIN7 定位在基细胞的顶部质膜上，诱导生长素从相邻的基细胞运输到顶细胞，生长素在顶细胞中积累。在球形胚期，PIN1 出现于细胞的基部质膜上，同时，PIN7 翻转定位于基细胞的基部质膜上，PIN4 开始在胚的基部表达，从而诱导生长素从胚胎细胞运输到胚根原（图 1），促进胚根原进一步发育形成根尖分生组织。从球形胚开始体内就建立了生长素的极性运输[6]。

在体细胞胚胎发生的表达期，降低外源生长素水平，使内源生长素随之降低，当内源生长素水平降低到一定程度时，有利于体内形成生长素梯度。如果胚性细胞连续生长在含有高水平生长素的培养基中，内源生长素持续维持在相对较高水平，体内生长素不易形成极性梯度，体细胞胚胎的发育明显受抑制。因此，生长素梯度

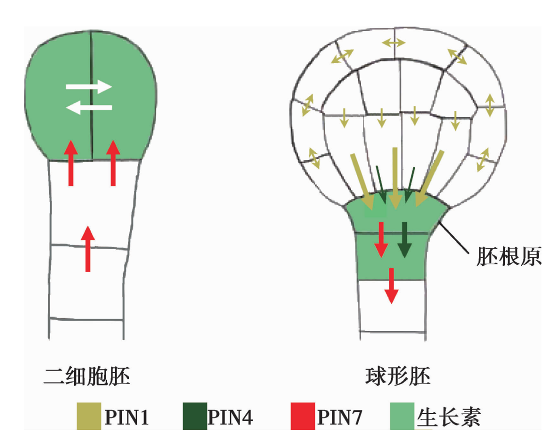


图 1　胚胎发育中生长素的积累和运输模型[6]
浅绿色代表生长素的积累部位，箭头代表生长素在 PIN1（黄色）、PIN4（深绿色）和 PIN7（红色）作用下的运输方向

的建立和 PIN 介导的生长素极性运输是球形胚后的胚胎发育所必需的，生长素梯度是启动胚胎发育的基础[7,8]。

拟南芥突变体和生长素极性运输抑制剂实验提供了有力的证据，多个 *PIN* 基因突变体表现出胚胎基本结构特征——顶-基轴结构严重缺失。外加生长素极性运输抑制剂也可完全抑制体细胞胚胎的形成。

在植物生长发育过程中，环境和内源信号通过影响局部生长素的合成和胞间生长素的运输，使生长素在体内的分配发生改变，从而影响植物的发育[9]。在胚胎发生过程中，生长素的运输、分配和生长素信号在顶-基轴结构特征和器官建成中起关键作用[10]。但目前关于生长素在体细胞胚胎发生中的作用机制以及体细胞胚胎发生的分子机制还不完全清楚。为什么高浓度生长素可以诱导体细胞的基因表达模式和发育途径转变为胚胎发生的模式？刺激营养体细胞向胚胎发生过度的关键因子及作用机制如何？对这些问题的阐述，为现代分子生物学提出了挑战。目前问题的难点在于：在不同品种和基因型中，体细胞胚胎发生的诱导、发育和表达缺乏完全统一的机制。

参 考 文 献

[1] Fehér A，Pasternak TP，Dudits D. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. Plant Cell Tiss Org Cult，2003，74：201-228

[2] Ledwoń A，Gaj MD. *LEAFY COTYLEDON 2* gene expression and auxin treatment in relation to embryogenic capacity of *Arabidopsis* somatic cells. Plant Cell Rep，2009，28：1677-1688

[3] Stone SL，Braybrook SA，Paula SL，et al. *Arabidopsis LEAFY COTYLEDON 2* induces

maturation traits and auxin activity：implications for somatic embryogenesis. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：3151-3156

[4] Wiśniewska J，Xu J，Seifertová D，et al. Polar PIN localization directs auxin flow in plants. Science，2006，312：883

[5] Friml J，Vieten A，Sauer M，et al. Efflux-dependent auxin gradient establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. Nature，2003，426：147-153

[6] Tanaka H，Dhonukshe P，Brewer PB，et al. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution：a means to coordinate plant development. Cell Mol Life Sci，2006，63：2738-2754

[7] Jiménez V. Involvement of plant hormo nes and plant growth regulators on *in vitro* somatic embryogenesis. Plant Grow Regul，2005，47：91-110

[8] Su YH，Zhao XY，Liu YB，et al. Auxin-induced *WUS* expression is essential for embryonic stem cell renewal during somatic embryogenesis in Arabidopsis. Plant J，2009，59：448-460

[9] Vanneste S，Friml J. Auxin：a trigger for change in plant development. Cell，2009，136：1005-1016

[10] Swarup R，Bennett M. Auxin transport：the fountain of life in plants? Devel Cell，2003，5：824-826

撰稿人： 李颖章

中国农业大学

审稿人： 武维华　韩玉珍

为什么有些植物必须经过一段时间低温后才能开花?

Why Is a Prolonged Chilling Treatment Required for Flowering of Some Plants?

许多植物在种子萌动或营养生长阶段必须经历一段时间低温后才能开花。如没有经过低温，这类植物开花推迟或长期维持营养生长状态。早在 1918 年，加斯纳（Garssner）用不同的温度对冬黑麦进行处理（最低 1℃，最高 24℃），结果发现，只有苗期经过 1～2℃处理的冬黑麦植株能够开花。在苏联一些高寒地区，由于冬季温度太低，无法播种冬小麦，而春季播种的冬小麦又不能在当年开花。为了解决这一问题，李森科（Lysenko）将加斯纳的研究应用于农业生产，把吸水萌动的种子进行低温处理后春播，当年夏天即抽穗开花，他把这种处理方法称为春化作用（vernalization），意指使冬麦春性化了。以后，人们把低温处理促进植物开花的作用统称为春化作用。

研究表明，春化作用是一个缓慢的量变积累过程，只有当低温处理足够长的时间后，植物才会产生明显的春化反应；植物感受低温春化的部位是分生组织，只有具分裂活性的细胞才能对低温春化做出反应；分生组织一旦经过一段时间的低温处理，就获得了稳定的春化状态，以后回到正常的生长温度下可以保持这种春化状态并通过有丝分裂传递，说明低温处理使分生组织中的基因表达发生了稳定的变化（表观遗传学变化）。例如，将天仙子经春化后的顶端嫁接在未经春化的植株上，可以在短日条件下长期保持营养生长，而一遇到合适的长日诱导条件，就形成花芽；而将未经春化处理的顶端嫁接到春化的植株上，即使在合适的光周期条件下仍不能开花[1]。

自从春化作用这一现象被发现以来，科学家们一直在探索低温促进植物开花的内在机制。近年来通过对模式植物拟南芥的研究表明，春化作用对开花的促进作用是通过抑制 *FLC*（*FLOWERING LOCUS C*）基因的表达实现的[2]。*FLC* 基因编码含有 MADS 结构域的蛋白质，是一种转录因子[3]。在拟南芥有春化需要的生态型或突变体中，*FLC* 基因均表现高水平表达，而在不需要春化的生态型或突变体中，*FLC* 基因均表现出低水平的表达。低温春化处理诱导 *FLC* 基因表达的沉默，这种沉默状态可以通过细胞有丝分裂传递给子细胞，因而植株在一生中均表现稳定的春化状态，但这一状态不能通过减数分裂进行传递，子代植株重新表现出春化需要。现已证明 FLC 蛋白通过抑制开花途径的关键基因 *SOC 1* 的表达起着抑制开花的作用[4]。低温诱导的 *FLC* 表达的抑制与另外 3 个基因 *VIN 3*、*VRN 1* 和 *VRN 2* 的作用有关。*VIN 3* 编码一含具有锌指蛋白结构域的蛋白，是一种普遍存在于染色质修饰复合物中的植物转录调节蛋白。研究表明：低温首先诱导了 *VIN 3*

的表达，VIN3 通过使 *FLC* 基因启动子区域的组蛋白 H3 去乙酰化，阻抑了 *FLC* 基因的表达，从而建立了 *FLC* 表达的抑制状态[5]。另外两个基因 *VRN 1* 和 *VRN 2* 对于 *FLC* 表达的抑制状态的维持起关键作用。在 *vrn 1* 和 *vrn 2* 突变体中，在低温春化处理过程中 *FLC* 基因和野生型植物一样表现出下调，但在春化结束回到正常生长条件下后，*FLC* 基因表达的抑制状态不能维持。说明 *VRN 1* 和 *VRN 2* 基因编码的产物涉及细胞对低温的记忆[6,7]。*VRN 2* 编码一种含有 PcG 结构域的蛋白，*VRN 1* 编码一种含 Myb 结构域的蛋白。VRN1 和 VRN2 促进 *FLC* 启动子部分的组蛋白甲基化，进而招募异染色质蛋白 HP1，使 *FLC* 表达的抑制状态得以稳定维持（图 1）。

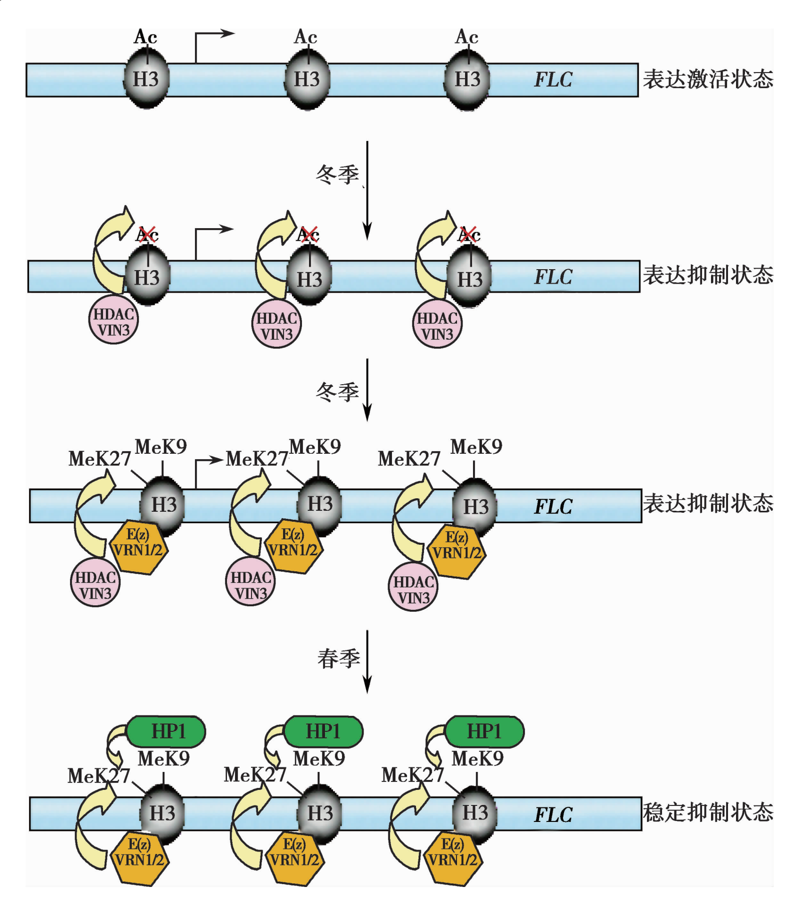


图 1　低温诱导 *FLC* 基因表达沉默的机制

低温信号首先诱导了 *VIN 3* 基因的表达，它是 *FLC* 基因启动子区域组蛋白 H3 去乙酰化酶复合物（HDAC）的组分。H3 去乙酰化产生了 VRN 1/2 复合物结合的环境，VRN 1/2 复合物结合后使 H3 的 9 位上的赖氨酸和 27 位上的赖氨酸甲基化（MeK9，MeK27），招募异染色质蛋白 HP1，使 *FLC* 基因保持沉默。在春天回到正常温度后，*VIN 3* 基因不再表达，而 HP1 复合物仍使基因继续维持沉默[7]

尽管近年来对模式植物拟南芥的春化作用机制的研究有了突破性进展，然而有关春化作用机制的很多基本问题仍有待回答。直到目前为止，低温信号的感受和低温信号引起的最初细胞学事件仍是未解之谜，即上游信号如何激活了 *VIN 3* 的表达？此外，在拟南芥中还发现几条不依赖 FLC 的春化途径。在其他需要低温的植物中，FLC 途径是否保守也不确定。在谷类作物冬小麦中发现低温春化解除的关键开花抑制物不是 FLC 类似物，而是另一种含有 CCT 结构域的蛋白[8]，这意味着在不同植物中可能存在独立进化的、不同的春化作用途径[9,10]。另外，在水稻基因组中也没有发现 FLC 类似物。总之，迄今为止有关春化作用的细胞及分子机制依然是植物发育生物学研究的重要科学问题之一。

参 考 文 献

[1] Lang A. Physiology of flower initiation. In：Rhuland W，ed. Encyclopaedia of Plant Physiology. Vol 15. Berlin：Springer-Verlag，1965，1380-1536

[2] Bastow R，Mylne JS，Lister C，et al. Vernalization requires epigenetic silencing of *FLC* by histone methylation. Nature，2004，427：164-167

[3] Michaels SD，Amasino RM. *FLOWERING LOCUS C* encode a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering. Plant Cell，1999，11：949-956

[4] Hepworth SR，Valverde F，Ravenscroft D，et al. Antagonistic regulation of flowering-time gene *SOC 1* by *CONSTANS* and *FLC* via separate promoter motifs. EMBO J，2002，21：4327-4337

[5] Sung S，Amasino R M. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein VIN3. Nature，2004，427：159-163

[6] Gendall AR，Levy YY，Wilson A，et al. The *VERNALIZATION 2* gene mediates the epigenetic regulation of vernalization in *Arabidopsis*. Cell，2001，107：525-535

[7] Sung S，Amasino RM，Vernalization and epigenetics：how plants remember winter. Curr Opin Plant Biol，2004，7：4-10

[8] Yan L，Loukoianov A，Blech A，et al. The Wheat *VRN 2* Gene is a flowering repressor down- regulated by vernalization. Science，2004，303 (12)：1460-1465

[9] Ausin I，Alonso-Blanco C，Martinez-Zapater J. Environmental regulation of flowering. Int J Dev Biol，2005，49：689-705

[10] Alexandre C M，Hennig L. *FLC* or not *FLC*：the other side of vernalization. J Exp Bot，2008，59：1127-1135

撰稿人：韩玉珍

中国农业大学

审稿人：武维华　韩玉珍

为什么植物的花粉管能准确地进入胚囊？

Why Does Plant Pollen Tube Grow Precisely Towards the Embryo Sac?

有花植物的花粉粒落到雌蕊柱头上后，萌发的花粉管沿着花柱组织定向生长，准确地通过珠孔进入胚囊，将花粉管中的精子释放，完成受精。精确的花粉管定向是植物成功受精的关键。然而为什么花粉管能准确地朝胚囊的方向生长？19 世纪末，人们通过体外培养花粉管和雌蕊组织的实验，提出了花粉管引导的概念。进一步的研究表明雌性组织对花粉管的引导作用在不同阶段是不同的。在进入子房前，花粉管可以在缺乏雌配子体的雌蕊组织的柱头和花柱上生长，说明花粉管从柱头生长到花柱基部的引导是不需要配子体的[1]。在进入子房后，花粉管生长需要雌配子体组织的引导。在雌配子体发育推迟的拟南芥 *maa* 突变体中，花粉管在胎座上生长到临近珠孔时失去方向[2]。

自从提出花粉管引导概念的 140 多年以来，科学家们一直在试图从雌蕊组织中鉴定引导花粉管定向生长的物质。最初提出的花粉管引导物质是 Ca^{2+}，研究者发现雌蕊组织从柱头到子房存在钙浓度逐渐增加的梯度[3]，在助细胞中也存在着高浓度的 Ca^{2+}。然而，随后有研究表明，钙是花粉管尖端生长所必需的[4]，因此花柱通道中的 Ca^{2+} 可能是刺激花粉管生长所需要的，它是否作为花粉管生长的引导物质还不能确定。1995 年在烟草花柱（实心花柱）中发现一种传递组织特异的糖基化蛋白质（TTS 蛋白，一种阿拉伯半乳聚糖蛋白）。从柱头到子房，TTS 蛋白的分子质量逐渐增高，糖基增多，酸性增强，梯度增高的方向与花粉管生长的方向相一致。体外实验表明，TTS 蛋白能促进和吸引花粉管的生长，但去糖基后其作用消失[5]。另一个可能的与花粉管引导有关的物质是从百合柱头分泌物中鉴定出的 9.9kDa 的称为向化性蓝素（chemocyanin）的碱性蛋白[6]。该蛋白主要在百合柱头和花柱中丰富表达，体外实验中，当与柱头-花柱中的一种称为黏附素（SCA）的富含半胱氨酸的蛋白一起应用时，表现出很强的引导花粉管活性。在拟南芥基因组有一个编码植蓝素（plantacyanin）的基因，它与百合的向化性蓝素表现出很高的同源性，在花柱传递组织中表达最丰富。但在体外实验中没有观察到它对花粉管有吸引作用。因此还不能确定百合和拟南芥的向化性蓝素是否具有普遍的引导花粉管的作用。在富含脂类分泌物的烟草柱头和拟南芥干性柱头上，合适的水分梯度也被认为是可能的花粉管引导信号[7]。

花粉管生长到达子房后，有来自孢子体组织的信号和配子体组织的信号引导其

进入珠孔[8]。在拟南芥中，γ-氨基丁酸（GABA）可能是这一阶段起作用的孢子体信号。已发现 GABA 在拟南芥雌蕊组织中形成梯度，在胚珠的内珠被中浓度达到最高。*POP 2* 基因编码一个降解 GABA 的酶，当该基因突变后，GABA 水平提高几十倍，同时花粉管在子房的生长不能被正确地引导。但在野生型含正常水平 GABA 的雌蕊上，还没有确定 GABA 是否具有吸引或指导花粉管生长的作用。

花粉管被引导进入珠孔还受配子体助细胞的控制。利用具有裸露胚囊的蓝猪耳植物的体外培养系统，证明花粉管可直接被引导到伸出的胚囊的珠孔端，通过激光技术杀死助细胞，则失去了对花粉管的引导作用。说明助细胞可能释放出了引导性物质[1]。在拟南芥中也已证明一种转录因子 MYB98 特异地在助细胞表达，它是指导花粉管进入珠孔所必需的[1]。助细胞释放的吸引物质是什么？用蓝猪耳和其他几种具有裸露胚囊的植物进行的体外共培养实验表明，助细胞释放的物质具有种特异性，每种花粉都优先地向它自己的胚珠的珠孔端生长[1]。引导物质具有种优先性的性质暗示这种物质进化上是迅速的，很可能是助细胞合成的分子，如多肽或蛋白质。在玉米中发现一个在助细胞中丰富表达的基因 *ZmEA 1*，编码一个 94 个氨基酸的小分子蛋白，ZmEA1 蛋白被分泌到胚珠的珠孔区域。该基因被敲除后，影响了珠孔对花粉管的短距离引导[9]。最近在蓝猪耳植物助细胞中签定出两种富含半胱氨酸的小肽（CRP），属于类似防卫素的蛋白，在体外具有明显的引导花粉管生长的效应。通过注射反义寡聚核酸使这两个基因的表达沉默，助细胞不再合成“引导”蛋白质，花粉管迷失生长方向。研究者将这两种物质称为“LURE1”和“LURE2”[10]。

综上所述，目前人们已普遍接受在花粉管生长过程中存在阶段特异的多个信号引导着花粉管定向生长。但从不同植物中鉴定出的引导物质多种多样，且这些引导物质引导花粉管生长的作用并没有在其他植物得以证明。因此在被子植物中阐明具有普遍意义的引导花粉管生长的物质还需要进行大量艰苦而细致的工作。

参 考 文 献

[1] Higashiyama T，Hamamura Y. Gametophytic pollen tube guidance. Sex Plant Reprod，2008. 21：17-26

[2] Shimizu KK，Okada K. Attractive and repulsive interactions between female and male gametophytes in *Arabidopsis* pollen tube guidance. Development，2000，127：4511-4518

[3] Mascarenhas JP，Machlis L. Chemotropic response of *Antirrhinum majus* pollen to calcium. Nature，1962，196：292-293

[4] Malhó R，Camacho L，Moutinho A. Signalling pathways in pollen tube growth and reorientation. Ann Bot，2000，85（Suppl A）：59-68

[5] Cheung AY，Wang H，Wu HM. A Floral transmitting tissue specific glycoprotein attracts pollen tubes and stimulates their growth. Cell，1995，82：383-393

［6］ Kim S，Mollet JC，Dong J，et al. Chemocyanin，a small basic protein from the lily stigma，inducespollen tube chemotropism. PNAS，2003，100：16125-16130

［7］ Wolters-Arts M，Lush WM，Mariani C. Lipids are required for directional pollen-tube growth. Nature，1998，392：818-821

［8］ Palanivelu R，Brass L，Edlund AF，et al. Pollen tube growth and guidance is regulated by POP2，an rabidopsis gene that controls GABA levels. Cell，2003，114：47-59

［9］ Márton M L，Cordts S，Broadhvest J，et al. Micropylar pollen tube guidance by Egg Apparatus 1 of maize. Science，2005，307：573-576

［10］ Okuda S，Tsutsui H，Shiina K，et al. Defensin-like polypeptide LUREs are pollen tube attractants secreted from synergid cells. Nature，2009，458 (19)：357-361

撰稿人：韩玉珍

中国农业大学

审稿人：武维华　李颖章

有花植物双受精过程中配子融合是随机的吗？

Dose the Gametic Fusion Randomly Occur during the Double Fertilization in Flowering Plants?

有花植物受精为双受精，即花粉管中的一对精细胞分别与卵细胞和中央细胞融合，前者发育为胚，后者发育为胚乳。这里存在的一个重要问题就是雌、雄配子配对融合是随机的还是定向的。如果是随机的，两个精细胞应该具有相同的细胞生物学和生理学特点，如果是预先设定的（即偏向受精，preferential fertilization），它们之间应该存在细胞生物学和生理学上的差异。一对精细胞来自于生殖细胞的有丝分裂，曾经认为它们是完全相同的一对细胞，不存在偏向受精的问题[1]。然而随后研究表明，在一些植物中存在精细胞异型性。电镜观察显示，白花丹同一花粉粒中的两个精细胞存在形态、大小及细胞器的差异。较大的精细胞与营养核联结（称为 S_{vn}），几乎不含质体，但含线粒体较多。而较小的不与营养核连接的精细胞则富含质体，线粒体较少（称为 S_{ua}）[2]。两类精细胞的基因表达谱也表现出明显差异[3]。除白花丹外，在菠菜、甘蓝、油菜、玉米、甜大戟、乳黄杜鹃花等植物中，也发现一对姊妹精细胞之间有分化，表现出在形状、体积和（或）可遗传细胞器（线粒体和质体）数量上的差异[4]。此外，在一个玉米品系（TB10L18）发现有核异型精子（nuclear heterospermy），同一花粉粒中的两个精细胞存在染色体差异，一个精细胞含有超量的 B-染色体，另一个精细胞缺少 B-染色体，这两个精细胞在大小上也具有二型性[5]。精细胞异型性的发现导致了偏向受精问题的提出。在白花丹植物已提供了偏向受精的证据：富含质体的小精细胞 S_{ua} 主要与卵细胞融合，而富含线粒体的 S_{vn} 主要与中央细胞融合，表现出明显的偏向受精特点[2]。在玉米 TB10L 18 中也发现有超数量 B-染色单体的精细胞与卵细胞结合的频率（大于 65%）高于的另一个精细胞[6]。

然而到目前为止，在其他植物中还没有关于偏向受精的实验证据。玉米（TB10L18 品系）体外受精系统的研究表明，在 5mmol/L $CaCl_2$ 条件下，约 80%的雄配子能与卵细胞结合[7]，显示同一花粉粒中的两个精细胞均能与卵细胞融合，这一结果也不支持偏向受精的观点。精细胞的定量细胞学研究也提供了几种植物精细胞同型性的证据。例如，大麦成熟花粉粒中精细胞之间与营养核之间无紧密联结，一对精细胞的体积、表面积及细胞器几乎没有差异。牵牛和烟草的一对精细胞也是同型的。

在拟南芥分子遗传学方面的工作或可为偏向受精问题提供新的线索。在拟南芥雄配子突变体 *cdc2a* 中，由于基因突变导致花粉有丝分裂Ⅱ不能进行，使得该突变

体的花粉中只有一个类精细胞。这个类精细胞是可育的，但只选择与卵细胞受精，而不与中央细胞受精[8]。另一个类似的拟南芥突变体 *msi 1* 的花粉粒中也只产生一个类精细胞，但该类精细胞与卵细胞和中央细胞以相等频率受精[9]，不存在偏向受精现象。

总之，在有花植物双受精过程中配子的融合是随机的还是定向的问题目前尚无明确答案。在动物和低等植物方面的研究已明确精卵细胞之间存在识别，而且糖蛋白是重要的识别物质[10]。因此从植物雌、雄配子体细胞鉴定膜表达的特异识别蛋白将有助于最终揭示这一发育学的重要问题。目前在拟南芥中已鉴定出在生殖细胞和精细胞中特异表达的膜蛋白 GCS1，在百合中鉴定出在精细胞特异表达的膜蛋白 LGC1[10]。这些膜蛋白可能参与了雌、雄配子体间的识别。然而要确定偏向受精的存在，我们还需要在两个精细胞之间鉴定出特异的识别蛋白分子。除白花丹外，在其他植物目前还不能将两类精细胞分别收集，因此要鉴定两类精细胞之间特异的膜蛋白分子是相当困难的。

参 考 文 献

[1] Jensen WA，Fisher DB. Cotton embryogenesis：the sperm. Protoplasma，1968，65：277-286

[2] Russell SD. Preferential fertilization in *Plumbago*：Ultrastructural evidence for gamete-level recognition in an angiosperm. Proc Natl Acad Sci USA，1985，82：6129-6132

[3] Singh MB，Bhalla PL，Russell SD. Molecular repertoire of flowering plant male germ cells. Sex Plant Reprod，2008，21：27-36

[4] 胡适宜．被子植物生殖生物学．北京：高等教育出版社，2005，58-91

[5] Wagner VT，Dumas C，Mogensen HL. Morphometric analysis of isolated *Zea mays* sperm. J Cell Sci，1989，93：179-184

[6] Roman H. Directed ferlilization in maize. Proc Natl Acad Sci USA，1948，34：36-42

[7] Faure J-E，Rusche M，Thomas A，et al. Double fertilization in maize：the two male gametes from a pollen grain have the ability to fuse with the egg cell. Plant J，2003，33：1051-1062

[8] Nowack MK，Grini PE，Jakoby MJ，et al. A positive signal from the fertilization of the egg cell sets off endosperm proliferation in angiosperm embryogenesis. Nat Genet，2006，38：63-67

[9] Chen Z，Tan JL，Ingouff M，et al. Chromatin assembly factor 1 regulates the cell cycle but not cell fate during male gametogenesis in *Arabidopsis thaliana*. Development，2008，135：65-73

[10] Ma'rton ML，Dresselhaus T. A comparison of early molecular fertilization mechanisms in animals and flowering plants. Sex Plant Reprod，2008，21：37-52

撰稿人： 韩玉珍

中国农业大学

审稿人： 武维华　李颖章

动物的种间自然杂交是否为新物种形成的动力之一?

Does Hybridization Initiate Speciation in Animals?

物种概念一直是生物学领域中的关键问题之一，自达尔文发表著名的《物种起源》后，150多年来关于物种的定义仍然存在着非常激烈的争论。目前，生物学的物种概念处于主流地位，即认为物种是在自然界中占据特殊生态位的种群的一个生殖集群，其在生殖上与其他物种相互隔离。由此可见，在生物学物种概念的定义中，生殖隔离是最重要的。进化生物学家围绕建立生殖隔离的基本方法，将物种形成模型分为异域物种形成和同域物种形成。异域物种形成或地理物种形成的原因是生殖隔离，而后者来自简单的地理隔离；同域物种形成或非地理的物种形成的原因是生殖断裂，而生殖断裂产生于生物之间的常规接触的界面，往往内在表现为抑制成功生殖的染色体重排。因此，物种的形成普遍被认为与隔离机制密切相关，且以地理隔离为促进新种形成的主要动力。在动物界中，不同物种的生殖隔离一般表现为不能产生可育后代。但我们不得不承认，目前对于物种以及物种形成本质的认识还远远不足，经典的物种形成理论仍然需要大量的科学验证、补充和修正。

随着对自然界庞杂的动物物种的不断发现和认识，人们发现在同一地理分布区内，经常存在一个或若干个物种，其形态特征（表型）与同域分布的两个物种的形态特征（表型）分别具有一定的相合性，并呈现出介于后两个物种形态特征（表型）的中间状态[1-3]。在遗传学上，通过种间杂交，往往可以获得这种具有两亲本中间表型态的杂交后代，而以往大量实验证明，杂交后代是不可育的。因此，一般认为近缘种间的杂交在自然界中由于地理、生理、生态等因素的隔离作用而极少发生，即便发生，其杂交后代也由于不可育性，导致其杂合的表型很难保持，并迅速消失。然而，许多学者开始对杂交后代的不可育性产生怀疑，并猜想动物界中已被发现的这些具有中间型的物种是否有可能通过种间杂交而形成？如果有可能，那么此类物种形成的机制具体是什么？近年来，通过分子生物学手段，发现在形态特征（表型）表现为中间型的物种，如一些蛱蝶、实蝇等昆虫和蝾螈等两栖类动物，它们的遗传结构（基因型）也呈现出杂合的中间状态[4-8]。因此，动物界中客观存在的中间型物种可能是由与之近缘的两个不同物种通过自然杂交而产生，这种观点得到了更多科学证据的支持，并广为关注。那么，如果此观点成立，基于隔离机制的主流生物学物种概念以及物种形成理论必将受到新的挑战。

近年来，欧美学者在动物种间杂交研究领域取得了突破性进展[5,9,10]，研究发

现，中美洲的 *Heliconius* 属蛱蝶中的 *H. heurippa* 的表型和基因型都呈现出与其近缘的两个种 *H. melpomene* 和 *H. cydno* 的中间状态，而后两种在实验室条件下人为杂交最多 2 代后，其后代的表型和基因型即与 *H. heurippa* 高度一致。更值得一提的是，在实验室条件下观察其杂合后代以及野生的 *H. heurippa* 与两亲本种的求偶交配行为时发现，杂合后代与野生的 *H. heurippa* 之间存在特异性的交配识别，彼此之间的交配十分频繁（约占 90%以上），而杂合后代以及野生 *H. heurippa* 同两亲本种的交配则极少发生，即便发生，其后代也不可育。该项研究揭示了动物界中某些近缘种间的杂交能够产生可育后代，并能快速形成生殖隔离，即形成了符合生物学物种概念的“新物种”。

然而，根据目前的研究进展就认为种间杂交是动物界中物种形成的动力和途径之一还为时尚早。首先，关于种间杂交产生具有生殖隔离的“新物种”的报道目前仍然十分罕见，该种机制是否在动物界中普遍存在还不得而知；其次，在实验条件下杂交产生的“新物种”的可育性能否长期保持还有待进一步的验证，其在自然界中的个体生存能力以及作为“新物种”在更长时间尺度上的生命力和延续性仍需要长期深入的研究。但是，随着分子遗传学、谱系生物地理学、行为生态学等学科的发展和先进技术的广泛应用，相信未来将逐步揭示动物界种间自然杂交的机制，丰富并修正物种形成理论。

参 考 文 献

［1］ Buerkle CA，Morris RJ，Asmussen MA，et al. The likelihood of homoploid hybrid speciation. Heredity，2000，84：441-451

［2］ Coyne JA，Orr HA. Speciation. Sunderland：Sinauer Associates，Inc. Publisher，2004

［3］ Gross BL，Rieseberg LH. The ecological genetics of homoploid hybrid speciation. J Hered，2005，96：241-252

［4］ Mallet J，Jiggins CD，McMillan WO. Mimicry and warning colour at the boundary between races and species. In：Howard DJ，Berlocher SH，eds. Endless Forms：Species and Speciation. New York：Oxford University Press，1998，390-403

［5］ McMillan WO，Jiggins CD，Mallet J. What initiates speciation in passion-vine butterflies? Proc Natl Acad Sci，1997，94：8628-8633

［6］ Salzburger W，Baric S，Sturmbauer C. Speciation via introgressive hybridization in East African cichlids? Mol Ecol，2002，11：619-625

［7］ Schwarz D，Matta BM，Shakir-Botteri NL，et al. Host shift to an invasive plant triggers rapid animal hybrid speciation. Nature，2005，436：546-549

［8］ Smith PF，Konings A，Kornfield I. Hybrid origin of a cichlid population in Lake Malawi：implications for genetic variation and species diversity. Mol Ecol，2003，12：2497-2504

［9］ Mavárez J，Salazar CA，Bermingham E，et al. Speciation by hybridization in *Heliconius*

butterflies. Nature，2006，441：868-871
［10］ Salazar CA，Jiggins CD，Arias CF，et al. Hybrid incompatibility is consistent with a hybrid origin of *Heliconius heurippa* Hewitson from its close relatives，*Heliconius cydno* Doubleday and *Heliconius melpomene* Linnaeus. J Evol Biol，2005，18：247-256

撰稿人： 刘星月　杨　定
中国农业大学
审稿人： 周开亚

昆虫的祖先是谁？它们有翅吗？

Who Is the Ancestor of Insects? Do They Hold Wings?

昆虫是地球陆生生态系统中最早的成员之一，也是最重要、最庞大的一个动物类群。已知的昆虫种类已经超过 100 万种，约占动物界所有物种的 2/3，其中有翅昆虫的种类占了 95%以上。昆虫是生物界第一个翱翔蓝天的群体，也是无脊椎动物中唯一可以自由飞翔的群体。这一特点使得昆虫在觅食、求偶、御敌、迁徙扩散等方面占尽优势。昆虫与鸟类的翅起源方式不同，鸟类的翅是由前肢衍化而来，而昆虫的翅则可能是胸部背板的衍生物。

昆虫从出现至今天的繁盛与大多数类群具翅有极大的关系。但是昆虫的祖先、起源时间、起源地点等问题一直存在争议。昆虫是从无翅昆虫进化成为有翅昆虫的假说，一直以来都得到各国专家学者的认可。包括与之相关联的关于翅起源的大多假说也都是建立在此基础之上的。著名的莱尼（Rhynie）燧石层（苏格兰，古生代早泥盆世，3.96 亿～4.07 亿年以前）曾发现了最古老的昆虫化石：一种无翅的内颚类 Entognatha 弹尾目 Collembola 昆虫 *Rhyniella praecursor* Hirst *et* Maulik，1926[1,2]（图 1）。莱尼地区先后共发现了该种保存完整或残缺的化石标本 12 块。并且经过严格的岩石学检测认定标本的成分与周围泥盆纪燧石层的组分一致，排除了现代物种化石污染的可能[3]。此后科学家们在泥盆纪和石炭纪发现的昆虫化石也都是无翅的种类。其中，在 3.9 亿年前的早泥盆世发现有石蛃目的头部及胸部残片；中泥盆世时（3.7 亿～3.9 亿年前），欧洲、北美许多地方都发现有石蛃目、衣鱼目等无翅昆虫的化石[4,5]。

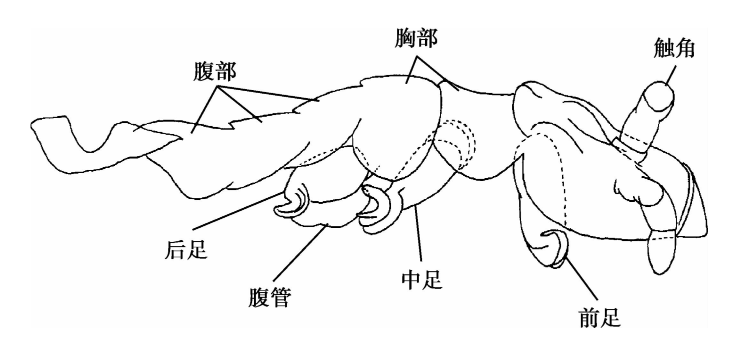


图 1　最古老的无翅昆虫 *Rhyniella praecursor* Hirst *et* Maulik，1926（弹尾目）[2]

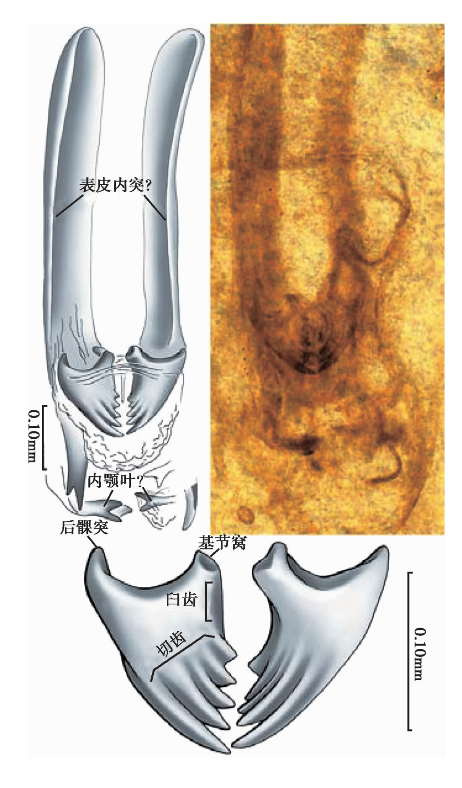


图 2　最古老的疑似有翅昆虫
Rhyniognatha hirsti Tillyard，1928[7]

然而最新的研究表明，早泥盆世时可能已经出现了真正具翅的外颚类 Ectognatha 昆虫 *Rhyniognatha hirsti* Tillyard，1928[6]。这块 80 年前发现的标本碎片一直都没有得到充分的认识，直到 2004 年，Engel 和 Grimaldi 才首次给出结论：它的短粗、近三角形的双关节下颚暗示这块标本属于一种有翅昆虫[7]（图 2）。此前最古老的有翅昆虫大约出现在 3.1 亿～3.3 亿年前，这一发现将有翅昆虫的历史提前了 8000 万年。但是最可惜的是这块化石并未保存有翅的任何结构，而只是头部的一小部分碎片。

如果是这样，那么有翅昆虫的历史就要改写了。在 4 亿年前，昆虫可能并不是我们所想象的那样只有无翅类群的存在，有翅昆虫也登上了进化的舞台。如果我们依然认为具单关节下颚的无翅昆虫是昆虫中更古老的类群，那么昆虫的起源时间就必须往前推至志留纪甚至更早（但地球已历经如此悠远复杂的地质历史变化，要想找到保存完整确实可信的昆虫化石实非易事）。或者是说昆虫翅的出现是一个极其迅速并且极其成功的进化过程，以至于在昆虫出现之初就有了具翅类群的踪影。当然有翅昆虫先于无翅昆虫出现这种可能性现在看来也是存在的，尽管可能性非常的低，毕竟进化的过程理应由简单到复杂，由低级到高级。

从早石炭世到中三叠世，天空中自由飞翔的生灵只有昆虫。翼龙、鸟、蝙蝠等脊椎动物的飞翔历史较之要短得多。第一个真正的昆虫翅化石来自德国早石炭世纳缪尔 A 期，这是已绝灭的古网翅目 Palaeodictyoptera 的一个种 *Delitzschala bitterfeldensis* Brauckmann *et* Schneider，1996[8]（图 3）。在中西欧和北美东北部还发现了少数早中石炭世的原直翅目、蜚蠊目等新翅类的昆虫[4,5]。例如，蜚蠊目是现生有翅昆虫中的最古老的成员，这个神奇的活化石已经在地球的地质历史中存在了 3.2 亿年。3500 个现生种的基本形态结构与石炭纪第一次出现时几乎一模一样。以它们现在顽强惊人的适应能力看，蜚蠊可以继续存在于地球地质历史下一个甚至再下一个 3.2 亿年的化石记录中。石炭纪末期，昆虫为了避开成虫、幼虫在食物、生存空间等

方面的竞争，出现了蛹期，昆虫中开始有了完全变态类的出现。蛹期的出现给翅的发生产生了一次巨大的转变，一部分昆虫的翅由外生变成内生，翅肌的出现由幼期转到了蛹期发生。这些转变都是昆虫对于生存环境的完美适应，使得昆虫成为地球生物圈最庞大的族群。



图 3　保存下来最古老的昆虫的翅（古网翅目）*Delitzschala bitterfeldensis* Brauckmann *et* Schneider，1996[8]

目前来看，到底昆虫的祖先是谁？什么时候起源？我们依然没有答案。然而，新的、更完整、更古老的化石发现会为我们一一解答这些困惑，总会带给我们新的惊喜。有一点可以肯定的是，昆虫是地球上适应能力最强、进化最成功的一类生物。它们在地球上至少已经存在了 4 亿年，并且依然生生不息、欣欣向荣。

参 考 文 献

[1] Hirst S，Maulik S. On some arthropod remains from the Rhynie Chert (Old Red Sandstone). Geol Mag，1926，63：69-71

[2] Scourfield DJ. The oldest known fossil insect (*Rhyniella praecursor* Hirst & Maulik) -Further details from additional specimens. Proc Linn Soc London，1940，152：113-131

[3] Whalley P，Jarzembowski E A. A new assessment of *Rhyniella*，the earliest known insect，from the Devonian of Rhynie，Scotland. Nature，1981，291：317

[4] Rasnitsyn AP，Quicke DLJ. History of Insects. Dordrecht：Kluwer Academic Publishers，2002

[5] Grimaldi D，Engel MS. Evolution of the Insects. New York：Cambridge University Press，2005

[6] Tillyard RJ. Some remarks on the Devonian fossil insects from the Rhynie Chert Beds，Old Red Sandstone. Trans R Ent Soc London，1928，76：65-71

[7] Engel MS，Grimaldi DA. New light shed on the oldest insect. Nature，2004，427：627-630

[8] Brauckmann C，Schneider J. Ein unter-karbonisches Insekt aus dem Raum Bitterfeld/Delitzsch (Pterygota，Arnsbergium，Deutschland). Neues Jahrb Geol Paläont Monatsh，1996，1：17-30

撰稿人：[1] 张魁艳　[2] 杨　定

1 中国科学院动物研究所

2 中国农业大学

审稿人： 周开亚

昆虫是“飞翔的甲壳类”吗?

Are Insects Flying Crustaceans?

节肢动物（Arthropod）是动物界最庞大的一个类群，根据 *Catalogue of Life*：*2009 Annual Checklist* 统计，已经命名的节肢动物约有 818 535 种[1]。而推测的现生节肢动物数可能有数百万到数千万种。这些动物类群包括螯肢动物（Chelicerate）、多足动物（Myriapod）、甲壳动物（Crustacean）和六足动物（Hexapod）。在这些现生的节肢动物中，甲壳动物和六足动物是多样性最为丰富的两个类群，前者已命名的约有 27 000 种[1]，但 Land（1996）统计为 52 000 余种；后者则有 71 万种以上[1]。它们在外部形态、体形大小和生活习性等诸多方面展现出令人难以置信的多样性。Martin 和 Davis（2001）在梳理甲壳动物的分类系统时写道：“世界上没有任何一类动物甚至植物类群，像甲壳动物一样，展现出如此丰富的形态多样性”。甲壳动物生活在全球各种深度的海水、咸淡水和淡水环境中，只有很少一部分类群如陆生等足类，成功地适应了陆地生活。六足动物，包括昆虫和三类原始的无翅六足类即弹尾虫、原尾虫和双尾虫[2]，则成为陆生节肢动物的主力军。也有少数昆虫借助行为的适应性改变，以及呼吸器官的改造，重新生活于水环境之中。那么，生活在水中的纷繁多样的甲壳动物与六足动物，以及其他节肢动物类群之间有着什么样的渊源？它们各自又是通过何种途径发生和进化而来的？为了揭开这些奥秘，科学家们应用宏观生物学、微观生物学的方法和手段，尝试重建这些动物类群的进化历史和进化关系。20 世纪前叶，一些学者通过比较形态学和比较解剖学的研究，认为六足动物与同样营陆生生活的多足动物是姐妹群。它们之间共同的性状包括：缺少第二触角（被称为缺角类 Atelocerata），具有气管式的气体交换系统，具有单肢型的附肢等。但单肢后来被认为是趋同进化的性状。甲壳动物则被认为是“六足动物＋多足动物”的姐妹群，其依据是二者具有同源的大颚、相同的头部和头部的附肢等特征。

1997 年，Zrzavy 和 Štys 基于 300 多个特征的全证据分析提出泛甲壳动物（Pancrustacea）假说[3]，即泛甲壳动物＝甲壳动物＋六足动物。或解释为：甲壳动物与六足动物互为姐妹群。而基于神经系统结构和发育的神经系统发生学研究则更推崇四棱晶锥类（Tetraconata）假说，认为组成复眼的视觉单位——个眼（ommatidia）具有由 4 个晶锥细胞（crystallinecone cell）产生中央的四棱形晶锥（tetrapartite crystalline cone），是六足动物与软甲类（Malacostraca）、非软甲类甲壳动物的共近裔性状[4]。无论泛甲壳类还是四棱晶锥类，其实质都归结于六足动物与

甲壳动物的系统发生关系更近。有学者因此提出昆虫是“陆地上的甲壳类”或“飞行的甲壳类”这样的比喻。

绝大多数来自分子系统学的研究，以及合并分子与形态学数据的系统发生学研究都支持单系的“六足动物＋甲壳动物”的系统发生关系[5-6]。同时，对神经系统发生和结构的比较研究也提出了支持这种关系的证据[7]。但是，对附肢基部外骨骼骨片形态结构的比较解剖学研究，则提出了与之相悖的推论[8]。另外，基于分子系统学，包括合并的分子与形态数据的分析，对这个单系泛甲壳动物群内部的六足动物，特别是甲壳动物的单系性提出了质疑。对线粒体基因组部分序列以及全序列的系统发生分析提出甲壳动物中的软甲类（Malacostracan）与昆虫的关系要比它们与鳃足类（Branchipod）甲壳动物的关系更近。而基于线粒体基因组全序列重建的动物包括原始六足类在内的节肢动物主要类群系统发生关系，对六足动物的单系性提出了质疑，认为原始六足类早在昆虫与甲壳动物的分歧发生之前就已经形成单独的分支。此后，基于线粒体部分基因的分子系统学分析又进一步提出六足动物与甲壳动物互为并系。然而，近来基于核核糖体 RNA 基因部分序列和近全长序列构建的分子系统发生关系，则表明六足动物是单系群[9]。

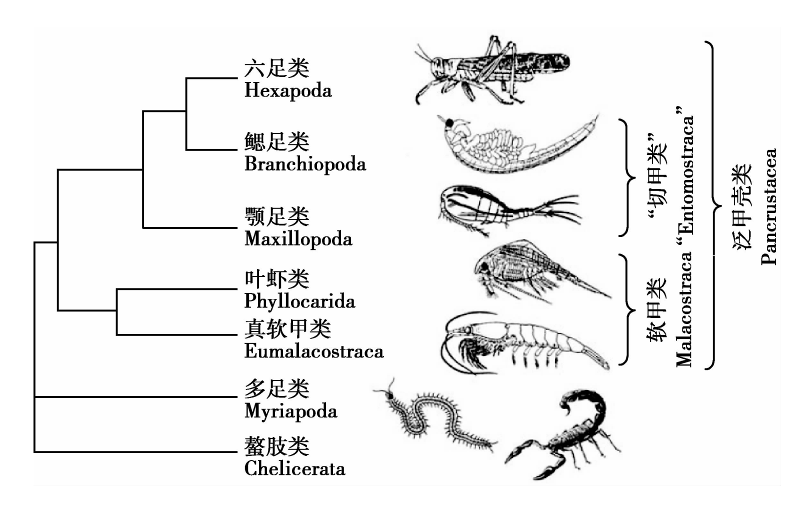


图 1　节肢动物的系统发生树[12]

目前，对节肢动物的进化关系仍存在不同的见解，主流的认识是：“甲壳动物＋六足动物”是一个单系群，它包括了由一个共同祖先进化形成的所有后裔。而甲壳动物则是并系发生的。也就是说，六足动物只是甲壳动物家族在陆地上的一个支系。如果这种推论是正确的，那么，一个首先需要澄清的疑问是：甲壳动物中谁又是六足动物的姐妹类群呢？20 世纪初，一些学者提出甲壳动物中的软甲类与六足动物（或昆虫）是近亲。这种看法得到了基于线粒体 DNA 分子系统发生研究的支

持。另外，对节肢动物神经系统解剖结构和发育的系统发生分析则支持桨足类（Remipede）、软甲类与六足类的关系更近。基于核核糖体基因序列的分子系统学研究，则支持桡足类（Copepod）与六足动物的关系最近，其次是鳃足类[10]。而基于核基因组长度合计 39.9 Mb 的表达序列标签重建的 21 个门类的动物系统发生关系，则支持鳃足类与昆虫的关系最近，其次是软甲类[11]。根据 77 条合并基因序列重建的节肢动物系统发生关系也表明，六足动物与切甲类（Entomostraca）中的鳃足类互为姐妹群（图 1）[12]。甲壳动物中究竟哪一类与六足动物更近缘，依旧悬而未决，而且各种假说都没有古生物化石证据的支持。因此，要确切地回答昆虫是不是飞行的甲壳动物，还有漫长的探索之路。

参 考 文 献

[1] Bisby FA，Roskov YR，Orrell TM，et al. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life：2009 Annual Checklist. Species 2000：Reading，UK. 2009

[2] 尹文英，宋大祥，杨星科等 . 六足动物（昆虫）系统发生的研究 . 北京：科学出版社，2008

[3] Zrzavy J，Štys P. The basic body plan of arthropods：insights from evolutionary morphology and developmental biology. J Evol Biol，1997，10：353-367

[4] Dohle W. Are the insects terrestrial crustaceans? A discussion of some new facts and arguments and the proposal of the proper name “Tetraconata” for the monophyletic unit Crustacea ＋ Hexapoda. Ann Soc Entomol Fr（New Series），2001，37：85-103

[5] Boore JL，Lavrov DV，Brown WM. Gene translocation links insects and crustaceans. Nature，1998，392：667-668

[6] Giribet G，Edgecombe GD，Wheeler WC. Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology. Nature，2001，413：157-161

[7] Harzsch S. Neurophylogeny：Architecture of the nervous system and a fresh view on arthropod phyologeny. Integr Comp Biol，2006，46：162-194

[8] Bäcker H，Fanenbruck M，Wägele JW. A forgotten homology supporting the monophyly of Tracheata：The subcoxa of insects and myriapods revistited. Zool Anz，2008，247：185-207

[9] Mallatt J，Giribet G. Further use of nearly complete 28S and 18S rRNA genes to classify Ecdysozoa：37 more arthropods and a kinorhynch. Mol Phylogenet Evol，2006，40：772-794

[10] von Reumont BM，Meusemann K，Szucsich NU，et al. Can comprehansive background knowledge be incorporated into substitution models to improve phylogenetic analyses? A case study on major arthropod relationships. BMC Evol Bio，2009，9：1-19

[11] Dunn CW，Hejnol A，Matus DQ，et al. Broad phylogenomic sampling improves resolution of the animal tree of life. Nature，2008，452：745-749

[12] Aleshin VV，Mikhailov KV，Konstantinova AV. On the phylogenetic position of insects in the Pancrustacea clade. Mol Bio，2009，43：804-818

撰稿人：孙红英 周开亚
南京师范大学
审稿人：计 翔 杨 定

蛇类起源之谜

The Mystery of the Origin of Snakes

蛇类是没有四肢的爬行动物。在人们的印象中，它们行动诡秘，毒素可致命，且常出现在邪恶、可怕的传说和故事中，从而对蛇类有种与生俱来的恐惧。现生蛇类分布很广，除了南极洲外，它们几乎遍布全世界。蛇类是爬行动物中最晚分化出来的一支，最早的化石记录可追溯到 1 亿多年前的白垩纪中期。

蛇类究竟起源于何种动物？对现存类群进行研究后发现，作为爬行纲有鳞目下的两个亚目，蛇类和蜥蜴类亲缘关系非常密切，因此认为蛇类起源于地史时期中的某类蜥蜴。要进一步了解蛇类的起源及其早期的进化历史，必须要找到现生蛇类的祖先或者姐妹群，遗憾的是在这个问题上很难达成共识。

形态学研究发现，蛇类与蚓蜥类、双足蜥类之间共有一些特征：如颅骨的减少及合并、封闭的脑壳、四肢和肩带的退化或减少等。基于以上特征，陆地起源假说提出蛇类与陆生的蜥蜴类关系最近，它的祖先在陆地上逐渐失去了四肢。另一种海洋起源假说则认为与蛇类关系最近的是白垩纪时期生活在海洋里的蜥蜴类（如沧龙 mosasaur），蛇类的祖先在海洋生活中四肢退化。根据海洋起源假说，蛇类起源于包括已灭绝的海生爬行类（沧龙）以及现生陆地类群毒蜥科和巨蜥科在内的巨蜥类，即巨蜥类是与蛇类关系最近的类群。在缺乏化石证据的情况下，无法判断哪一种假说更为准确。

蛇类化石的出现，给了研究者们解决这一难题的极大信心。然而化石的稀缺和对化石形态特征的不同解析，却引发了陆地起源还是海洋起源更为热烈的争论。发现于耶路撒冷的海洋蛇类化石（*Pachyrhachis*），拥有较发达的后肢和原始的头部特征，被认为位于所有其他蛇类的基部，是海生蜥蜴沧龙和蛇类之间过渡物种的杰出代表，成为海洋起源假说的有力支持[1-2]。然而，其过渡物种的地位很快受到了质疑。2000 年，*Science* 杂志上发表了同时期、同地点的另一具蛇类化石（*Haasiophis*）[3]，同样具有发达的后肢，但与前者相比，头部骨骼保存得更为完好。比较发现，其头部结构中出现了与蟒蛇较为类似的高级特征，如连接上下颌的关节使嘴可以张开很大，以便吞下很大的猎物等。系统发生分析显示，上述两种化石蛇类互为姐妹群关系，并嵌套于真蛇类内部，与大口蛇类（包括蟒蛇、蚺蛇以及游蛇类等）关系较近，而它们位于所有蛇类基部的假设未得到支持。鉴于以上结果，否定了海洋起源假说，并认为附肢在蛇类的进化过程中进化了不止一次。联想到现存蟒蛇中仍留有的后肢残余，化石蛇类的系统发生位置是能够被接受的。最新的化石证

据表明，蛇类起源于陆生蜥蜴类的可能性也许更大。2006 年发现于阿根廷的迄今最为原始的蛇类化石（*Najash*）在 *Nature* 杂志发表[4]。与此前所有化石相比，它除了拥有后肢外还有荐椎。此外，头骨和椎骨均出现了对地下生活的适应性特征。新化石物种在系统发生分析中处于基部位置，更加有力地支持了蛇类的陆地起源假说。

分子系统学的崛起，激发了研究者们使用新方法解决老争端的热情。可是，两种假说都或多或少地得到了部分分子系统发生证据的支持。在取样覆盖了绝大部分蜥蜴类和蛇类主要类群的基础上，来自核基因的信息提示，蛇类并没有与巨蜥类聚为姐妹群，从而从分子方面支持了陆地起源假说[5]。反驳随之而来，在推翻了海生蜥蜴类与现有巨蜥类关系较近这一假设的基础上，提出上述的分子证据实为支持了海洋起源假说[6]。近年来，随着线粒体基因组全序列在有鳞类动物系统发生分析中的应用，与蜥蜴类无关的蛇类独立起源的观点被再次提起。基于线粒体基因组全序列的研究结果提示蛇类和蜥蜴类各自聚为单系群，不支持蛇类起源于蜥蜴类内部，认为蛇类是独立起源的[7-9]。

蛇类的起源问题涉及有鳞类内部的系统发生关系，蜥蜴亚目是否为单系，有鳞类动物运动以及摄食方式的进化等一系列重要内容。解决这一难题的关键在于：一方面，在化石物种分子信息缺失的情况下，对蛇类化石物种和蜥蜴类化石物种形态特征的正确解析，当然还寄希望于更多中生代化石的发现和形态特征解析；另一方面，利用分子手段重建更具说服力的系统发生关系也十分重要。

参 考 文 献

[1] Caldwell MW，Lee MSY. A snake with legs from the marine Cretaceous of the Middle East. Nature，1997，386：705-709

[2] Scanlon JS，Lee MSY，Caldwell MW，et al. The Palaeoecology of the primitive snake *Pachyrhachis*. Hist Biol，1999，13：127-152

[3] Tchernov E，Rieppel O，Zaher H，et al. A fossil snake with limbs. Science，2000，287：2010-2012

[4] Apesteguía S，Zaher H. A Cretaceous terrestrial snake with robust hindlimbs and a sacrum. Nature，2006，440：1037-1040

[5] Vidal N，Hedges SB. Molecular evidence for a terrestrial origin of snakes. Proc R Soc Lond B，2004，271（Suppl）：S226-S229

[6] Lee MSY. Molecular evidence and marine snake origins. Biol Lett，2005，1：227-230

[7] Kumazawa Y. Mitochondrial DNA sequence of five squamates：phylogenetic affiliation of snakes. DNA Res，2004，11：137-144

[8] Dong S，Kumazawa Y. Complete mitochondrial DNA sequences of six snakes：phylogenetic relationships and molecular evolution of genomic features. J Mol Evol，2005，61：12-22

[9] Zhou KY, Li HD, Han DM, et al. The complete mitochondrial genome of *Gekko gecko* (Reptilia: Gekkonidae) and support for the monophyly of Sauria including Amphisbaenia. Mol Phylogenet Evol, 2006, 40 (3): 887-892

撰稿人：严　洁　周开亚
南京师范大学
审稿人：杨　定

植物的衰老及其调控

Senescences and Their Regulations in Plant

衰老（senescence）是一个最终导致死亡（death）的高度调控的分子、生化和生理过程[1]。植物的衰老主要表现为器官的衰老和个体的衰老，事实上衰老首先发生在亚细胞（叶绿体、线粒体）、细胞和组织（离层、绒毡层等）层面上。不同类型的植物，其衰老和死亡的方式不同，主要包括以下三种形式。①对于典型的一年生或隔年生植物来说，叶片、分枝（蘖）、花器官、果实等在衰老程序启动后数天或数周内先后衰老和死亡，最后是个体的死亡；下部器官的衰老和死亡常常伴随着上部新生器官的发生，整个植株的衰老与死亡一般与开花和结实联系在一起。②对于多年生宿根（茎）草本植物，在日照逐渐缩短、温度逐渐降低的秋冬季节，地上部分逐步衰老死亡，与此同时营养不断转运并贮藏于地下根茎中，待到来年春夏季节再恢复生长。这种交错式的器官消亡和再生模式有别于我们通常所理解的动物和人类器官与个体的衰老与死亡，首先它是一个主动的调控过程，通过营养的转运和再利用直接促进新生器官的生长发育，并不导致常规意义上的个体残废；另外，这种体质（soma）消亡与种质（germ cell）诞生的耦联过程，也不是真正意义上的死亡。③对于多年生的落叶（或常绿）高大乔木或灌木，在它们长达百余年乃至数万年的生命历程中，可以行多次的有性繁殖，也可以行无限的克隆繁殖。它们在细胞、组织或器官水平上的衰老也许与前两类植物无异，但是其令人难以察觉的植株水平上的衰老进程，以及在漫长生命历程中依赖于持续生长发育的营养体的多次有性生殖过程，让人们自然而然地联想到那些长寿的高等动物。这种超长的生命周期，主要得益于它们顶端分区域的无限性和全能性[2]。

看似纷繁的衰老模式在进化层面上体现了恰到好处的逻辑性。在高等物种形成和进化的早期，一些物种获得了自由移动的生活方式，即高等动物，另一些物种则获得了营固着的生活方式，即高等植物。高等植物在进一步的演化中又逐步分化出了应时娇小的草本类型（第①、②种类型）和健硕伟岸的木本类型（第③种类型）。基于错位生存的原则，上述演化结果是不难理解的。就草本植物而言，其娇小的个体难以抵挡严寒酷暑，以局部乃至整个营养体的主动消亡来保存和延续种质，以最小的物质和能量损失实现物种繁衍的最高法则，策略上可以理解为“两害相权取其轻”的“逃避”。与此相对的木本植物，在早期生长发育过程中需要耗费大量的物质和能量来构建其庞大的身躯，常常需要许多年的时间才能达到生殖成熟，在遇到难以回避的逆境时采用上述“逃避”的策略显然是“不合算”的，只有采取“坚壁

死守”（如发育出蜡质叶片、鳞片状叶片和坚韧的树皮）或“以逸待劳”（如休眠）的“坚守”策略，才能够使得早期的“巨额投资”在日后的生殖繁衍过程中获得“复利式的回报”。事实上，上述生存策略与衰老属性并非依据既定模式事先设计的，而是在不断的演化互动过程中，实现了逻辑上的最佳状态。

植物器官与个体的自然衰老与死亡的时序性常常与特定的环境改变或者季节变换密切联系在一起，表明环境因子可能是重要的诱因。但是，许多物种即使生长在相对恒定的环境里，器官和个体也会启动衰老程序；另外，不同的物种对同样的环境因子会产生截然不同的衰老响应。这些现象说明植物衰老进程的启动受到外界环境因子和内在遗传因素的共同调控[2]。对于模式植物，特别是拟南芥的许多研究表明，多种基因/因子能够显著调控/影响衰老的启动和进程，其中包括多种激素（细胞分裂素、乙烯、生长素、茉莉酸、脱落酸、水杨酸等）的合成与信号传导相关基因、NAC & WRKY 家族转录因子、蛋白激酶、*miRNA* 以及叶绿素和蛋白质降解相关基因[3-7]。然而，关于上述因子及其相关调控通路之间的网络关系依然知之甚少，它们对衰老进程影响的直接性和（或）专一性尚缺乏足够的依据。

在过去许多年中，尽管模式植物（拟南芥、水稻）上的分子遗传学和基因组学研究体系日臻成熟，但是关于植物器官与个体衰老调控机理的研究进展依然相对滞后，主要归因于下列四个方面的（客观）限制。第一，就个体衰老而言，由于不同物种间的生命周期差距太大，难以设计对等的或可比较的研究方案（仅就那些长寿物种的寿限而言，就远远超过许多代科学家的科学生命）；另外，绝大多数物种上缺乏有效的分子遗传学和基因组学研究体系，因而难以对生理生化层次上的数据进行可靠的验证。第二，直观的衰老表型事实上是许多复杂性状的综合表现，除非能够对上述许多复杂性状进行有效的分解和界定，否则难以找到研究的切入点。就叶片（绿色器官）衰老而言，早期的研究者发现叶绿素的降解和光合功能的衰退是受到两个相对独立的遗传体系所调控[8]。基于早期这一具有划时代意义的判定，近年来通过模式植物上相关突变体的筛选和关键功能基因的鉴别，使得对衰老进程中叶绿素降解遗传调控机理的探索取得了突破[4,9,10]。事实上，叶片衰老进程中还涉及蛋白质、核酸以及维生素等许多物质的降解和转运过程，如何从遗传学上准确和精确地界定这些过程，以及它们与叶绿素的降解和光合功能的衰退之间的关系，依然是一个不可低估的挑战。第三，个体衰老相关的性状是一类特殊的性状，它们的突变表型出现在发育的最后阶段，因而难以建立有效的高通量突变体筛选途径；另一个内在的困难是，影响早期发育进程的许多基因的变异，如涉及能量代谢与物质转运，以及叶绿体发育的基因的变异会在不同程度上影响个体衰老性状的表型，因而难以区分该类突变体与衰老进程调控因子的突变体。最后，也许是最具挑战性的问题，对于衰老进程启动与遗传调控模式的理解预期，是存在一个响应特定的整合衰老信号的关键遗传调控因子？还是存在一类同时响应特定衰老启动生理状态的相关

遗传调控因子？是否存在某些与早期发育进程连带调控的衰老进程？对这些问题理解的方式决定了研究设计的思想，进而影响到数据分析的思路。上述问题是植物衰老研究方面的难点，也是期待突破的领域。

参 考 文 献

[1] Noodén LD，Leopold AC. Senescence and aging in plants. San Diego：Academic Press，1988

[2] Munné-Bosch S. Do perennials really senesce? Trends in Plant Sci，2008，13（5）：216-220

[3] Lim PO，Kim HJ，Nam HG. Leaf senescence. Annu Rev Plant Biol，2007，58：115-136

[4] Ren GD，An K，Liao Y，et al. Identification of a novel chloroplast protein AtNYE1 regulating chlorophyll degradation during leaf senescence. Plant Physiol，2007，144：1429-1441

[5] Guo Y，Gan S. AtNAP，a NAC family transcription factor has an important role in leaf senescence. Plant J，2006，46：601-612

[6] Zhou C，Cai Z，Guo Y，et al. An *Arabidopsis* mitogen-activated protein kinase cascade，MKK9-MPK6，plays a role in leaf senescence. Plant Physiol，2009，150：167-177

[7] Kim JH，Woo HR，Kim J，et al. Trifurcate feed-forward regulation of age-dependent cell death involving miRNA in *Arabidopsis*. Science，2009，323（5917）：1053-1057

[8] Thomas H，Stoddard J. Separation of chlorophyll degradation from other senescence processes in leaves of a mutant genotype of meadow fescue（*Festuca pratensis* L.）. Plant Physiol，1975，56：438-441

[9] Park SY，Yu JW，Park JS，et al. The senescence-induced stay-green protein regulates chlorophyll degradation. Plant Cell，2007，19：1649-1664

[10] Armstead I，Donnison I，Aubry S，et al. Cross-species identification of Mendel's locus. Science，2007，315（5808）：73

撰稿人：蒯本科

复旦大学

审稿人：武维华　李颖章

光合作用放氧之谜

Oxygen Evolving Mystery of Photosynthesis

光合作用是绿色植物和光合细菌所特有的生命现象，它不仅是地球上最重要的化学反应，而且是地球上最大规模地把太阳能转化为生物化学能的过程。绿色植物在光合作用中，以太阳能为动力，把二氧化碳（CO_2）和水（H_2O）等无机物合成为碳水化合物等有机物，并释放出氧气（O_2）。光合作用所合成的有机物是人类和一切异养生物生存所需的物质和能量来源，而释放出来的氧气则是人类和一切需氧生物进行呼吸作用所必不可少的物质。可见，由于植物光合作用的存在，才使人类和其他生物生活所需的物质和能量有了可靠保证，整个自然界才能如此生意盎然、朝气蓬勃。

绿色植物，包括藻类以及产氧的光合细菌（如蓝细菌等）在进行有氧光合作用时，可用如下总反应式表示：

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{绿色植物（或叶绿体）}]{\text{光}} (CH_2O) + O_2$$

反应式中（CH_2O）是光合产物，代表碳水化合物。反应中植物吸收的光能被转化为稳定的化学能并储存在光合产物中。因此，光合作用既是一个物质转化过程，又是一个能量转化过程，同时也是一系列氧化还原过程，因为在这个反应式中，CO_2是碳的最氧化状态，而（CH_2O）则是碳的较还原的状态，这说明通过光合作用后，CO_2被还原了。氧在水中是一种还原状态，氧气则是一种氧化状态，通过光合作用，水即被光氧化。在这个过程中还伴随着一系列的电子传递。如果以光合作用生成葡萄糖分子（$C_6H_{12}O_6$）为例，那么上述的反应式应改写为：

$$6CO_2 + 6H_2O \xrightarrow[\text{绿色植物（或叶绿体）}]{\text{光}} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

从以上两个反应式看，光合作用似乎相当简单，但实际上它却存在一系列极其复杂的物理、光化学和生物化学等反应过程。自从 1771 年发现光合作用以来，经过全世界许多科学家 200 多年的共同努力，对光合作用所包括的光反应和暗反应中的各个分过程，进行了深入探索和研究，并取得了一系列研究成果，为阐明光合作用机理提供了依据。然而由于光合作用的复杂性，至今尚有许多奥秘未被揭开，还需要各国科学家和有志于从事光合作用研究的青少年携手共同努力，攻克阐明光合作用机制的各种难题，最终为人类工厂化地利用 CO_2 和 H_2O 生产有机物（如粮食）创造条件。下面我们以光合放氧为例说明光合作用之谜。

关于光合放氧，首先要涉及 O_2 是从何种物质释放出来的？放氧是发生在叶片什么部位（机构）？又是怎样释放出来的？由于科学技术的进步，发现了同位素，这便为人们解决光合作用所释放的 O_2 到底来自 CO_2，还是来自 H_2O 提供了研究手段。美国科学家鲁宾和卡门于 1938 年首先采用示踪原子的方法，用同位素 ^{18}O 标记 H_2O 和 CO_2，使它们分别成为 $H_2{}^{18}O$ 和 $C^{18}O_2$，然后用 CO_2 与 $H_2{}^{18}O$ 和 $C^{18}O_2$ 与 H_2O 这两种组合分别作为光合作用的原料进行实验，再分析放出的氧气。结果发现用前一种组合（CO_2 与 $H_2{}^{18}O$）时，放出的氧气全是 $^{18}O_2$，而用后一种组合（$C^{18}O_2$ 与 H_2O）时，放出的氧气则不含 $^{18}O_2$。反应式分别为：

$$CO_2 + 2H_2{}^{18}O \xrightarrow[\text{绿色植物（或叶绿体）}]{\text{光}} (CH_2O) + {}^{18}O_2 + H_2O$$

$$C^{18}O_2 + 2H_2O \xrightarrow[\text{绿色植物（或叶绿体）}]{\text{光}} (CH_2O) + O_2 + H_2{}^{18}O$$

以上实验无可辩驳地证明光合作用中释放的 O_2 完全来自于 H_2O，而且还说明放出 1 分子 O_2 需要 2 分子 H_2O 参与并被裂解。早在 1939 年，英国的希尔把一种人工电子供体加进从磨碎叶片分离出来的叶绿体中，结果发现照光后能放出 O_2，这便直接证明 O_2 是从叶绿体释放出来的[1]。随后科学家进一步研究发现，光合放氧过程发生在叶绿体中光系统Ⅱ（PSⅡ）的囊腔侧，即面向类囊体膜内腔一侧，而且在 PSⅡ的氧化侧存在次级电子供体 TyrZ（TyrZ 是 PSⅡ核心蛋白之一——D1 蛋白上 161 位的酪氨酸残基，亦称 Yz）[2]和“放氧复合物（oxygen-evolving complex，OEC)”两种结构成分。当 PSⅡ反应中心叶绿素 a（P_{680}）受光激发，发生电荷分离，并把所发射的电子（e^-）传递给 PSⅡ原初电子受体脱镁叶绿素（Pheo），使之成为 $Pheo^-$ 时，P_{680} 便转化成能从 Yz 夺取电子的强氧化剂 $P_{680}{}^+$，$P_{680}{}^+$ 从 Yz 获得 e^- 后还原成 P_{680}，它可继续接受光能再次发生电荷分离，重复上述反应。Yz 失去 e^- 后转变为 Yz^+，后者再通过锰簇复合物从 H_2O 接受 e^-，结果促使 OEC 发生状态变化，即 $S_0 \rightarrow S_1 \rightarrow S_2 \rightarrow S_3 \rightarrow S_4$（这是 Kok 等 1970 年提出的 OEC 所存在的 5 种不同状态），每发生一次状态变化都失去一个 e^-（图 1）[4]。因此从 S_0 到 S_4 的转变共失去 4 个 e^-，积累 4 个正电荷，并与 H_2O 反应，从 H_2O 中夺取 4 个 e^- 后回到原来的 S_0 态，与此同时，使 2 个 H_2O 分子发生裂解放出 1 分子 O_2 和 4 个质子（H^+），因此光合作用中水裂解放氧，可用下式表示：

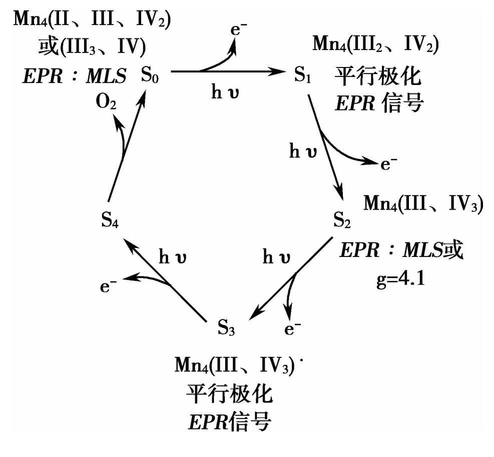


图 1 PS Ⅱ放氧复合物五种状态变化图[4]

$$2H_2O \xrightarrow{光} O_2 + 4H^+ + 4e^-$$

为进一步研究光合放氧机理，科学家利用各种分离技术，从破碎的叶绿体中分离出一种称为 PSⅡ放氧复合物（PSⅡ-OEC）的物质，并证明这种复合物由 7 种主要蛋白组成[5,6]，其中 D1 和 D2 两个蛋白构成 PSⅡ反应中心（PSⅡ-reaction center，PSⅡ-RC）的核心，CP43 和 CP47 组成紧密结合的内周天线捕光色素复合物，细胞色素 b_{559}（$Cytb_{559}$）α 亚基和 β 亚基构成膜内周蛋白，另一个是作为外周蛋白的 33kDa 蛋白（图 2）[7]。此外，33kDa 蛋白还与锰簇复合物结合在 PSⅡ-OEC 的类囊体囊腔侧。PSⅡ-OEC 的这些组成蛋白和锰簇，协同完成光合放氧，这些组分无论哪一个的结构或功能发生变化、遭受损害或破坏，都会使 PSⅡ放氧能力降低，甚至丧失放氧活性，就是有力的佐证。此外，还有 Ca^{2+} 和 Cl^- 等离子也是光合放氧所必需的[8]，因为它们在维持放氧复合物结构的稳定等方面有重要作用。

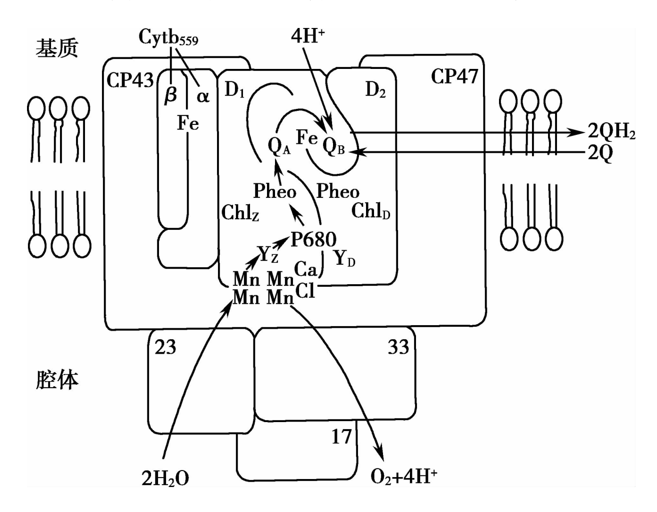


图 2　类囊体膜上 PS Ⅱ放氧复合体的结构模型[7]

PS Ⅱ放氧复合体由 7 种蛋白组成，其中的 33 表示 33kDa 蛋白

虽然光合放氧的研究已取得很大进展，但是至今仍然有许多问题尚未解决。例如，组成 PSⅡ-OEC 的各蛋白和锰簇在光合放氧中到底起什么作用？它们之间又是如何有机配合的？锰簇与膜蛋白之间结构上的关系如何？甚至研究较多的 CP43 和 CP47 两个蛋白的相对位置，它们中色素间的能量传递及传递机制都还不清楚，状态变化过程中锰离子价态的变化，以及放氧中心的 H_2O 与锰的配位等一系列问题都是谜团重重，有待人们进一步深入研究。

参 考 文 献

[1]　Hill R，Searisbrick R. Oxygen production by isolated chloroplasts. Pros Roy Soc B，1939，

127：192-210

[2] Debus RJ. Amino acid residues that modulate the properties of tyrosine Y_Z and the manganese cluster in the water oxidizing complex of photosystem II. Biochim Biophys Acta，2001，1503：164-186

[3] Kok B，Forbush B，McGloin M，et al. Cooperation of charges in photosynthetic O_2 evolution. Photochem Photobiol，1970，11：457-475

[4] Robblee JH，Cinco RM，Yachandra VK. X-ray spectroscopy-based structure of the Mn cluster and mechanism of photosynthetic oxygen evolution. Biochim Biophys Acta，2001，1503：7-23

[5] Ghanotakis DF，Yocum CF. Photosystem II and the oxygen—evolving complex. Annu Rev Plant Physiol，1990，41：255-276

[6] Ferreira KN，Iverson TM，Maghlaoui K，et al. Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. Science，2004，303：1831-1838

[7] 李淑芹，韩广业，张纯喜等. 光合放氧复合物的结构与功能//匡廷云主编. 光合作用原初光能转化过程的原理与调控 . 南京：江苏科学技术出版社，2003，219-236

[8] Kawakamia K，Umenab Y，Kamiyab N，et al. Location of chloride and its possible functions in oxygen-evolving photosystem II revealed by X-ray crystallography. PNAS，2009，106（21）：8567-8572

撰稿人：卢从明

中国科学院植物研究所

审稿人：匡廷云　黄　力

为何植物叶片表现出五颜六色？

Why Do Plant Leaves Show Different Colors?

一谈到植物叶片的颜色，首先在脑海里反映的大都是绿色。然而在温带地区，一到秋季，很多植物绿色的叶子都会逐渐变黄，枫树和黄栌叶子甚至变成了火红色。对于秋海棠、红背桂等植物，叶片正面是绿色而背面却是红色的。大自然中处处弥漫着神秘的色彩，如果地球上没有这些多姿多彩的植物，世界将变得黯淡无光。为什么植物叶片可以呈现不同的颜色，在不同的生长季节由嫩绿到浓绿，然后变成金黄等不同颜色，同一叶子的正反面颜色会有如此大的差别，在不同的生长环境中，植物叶片颜色竟会如同变色龙般地随时改变，这些现象一直深受广大科研工作者的关注，相关研究也取得了一系列进展。

植物叶片颜色来自于叶片细胞中所含的各种色素种类和相对含量。如绿色的叶绿素 a 和叶绿素 b、橙色的胡萝卜素、黄色的叶黄素、颜色多变的花青素等。通常情况下，在夏天，负责吸收光能的叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量最多，只会捕获红光和蓝紫光，而含量较少的类胡萝卜素只会捕获蓝光，而那些“无人问津”的绿光就会被叶片反射回来，或者透射过去。于是，叶子就显现出绿色来。随着秋天的到来，叶绿素在叶子里被分解、消失得很快，而类胡萝卜素则相对比较稳定，当类胡萝卜素含量较多时则叶片呈现出黄色。最新的研究表明，在这个过程中，植物会生产出花青素，来抵御低温条件下紫外线对叶绿素的破坏作用并改变其叶片颜色。可见在植物生长季节中叶片颜色的变化是上述色素协同作用的结果，几种色素在细胞中所占的分量和位置决定着叶子的颜色[1]。那么，它们是如何形成，彼此怎样相互作用并受其他因素影响的呢？下面分别简要予以介绍。

叶绿素（chlorophyll）在高等植物中主要有叶绿素 a（chlorophyll a，Chl a）和叶绿素 b（chlorophyll b，Chl b）两种（图 1），在颜色上，Chl a 呈蓝绿色，而 Chl b 呈橄榄绿色。叶绿素分子含有一个卟啉环（porphyrin ring）的“头部”和一个叶绿醇（植醇，phytol）的“尾巴”。卟啉环的中央络合着一个镁原子，镁原子偏向于带正电荷，而与其相耦联的氮原子则带负电荷，因而“头部”有极性，是亲水的。叶绿醇是由四个异戊二烯单位所组成的双萜，是亲脂的，能伸入类囊体的拟脂层，故叶绿素能定向排列。高等植物叶绿素的生物合成是以谷氨酸与 α-酮戊二酸作为原料的，合成 δ-氨基酮戊酸（δ-aminolevulinic acid，ALA，又称二氧戊酸）。然后在一系列酶的催化下，首先形成无色的原叶绿素酸酯，然后在光下被还原成叶绿素酸酯，再加入叶醇酯化形成 Chl a，Chl a 氧化形成 Chl b。上述过程均

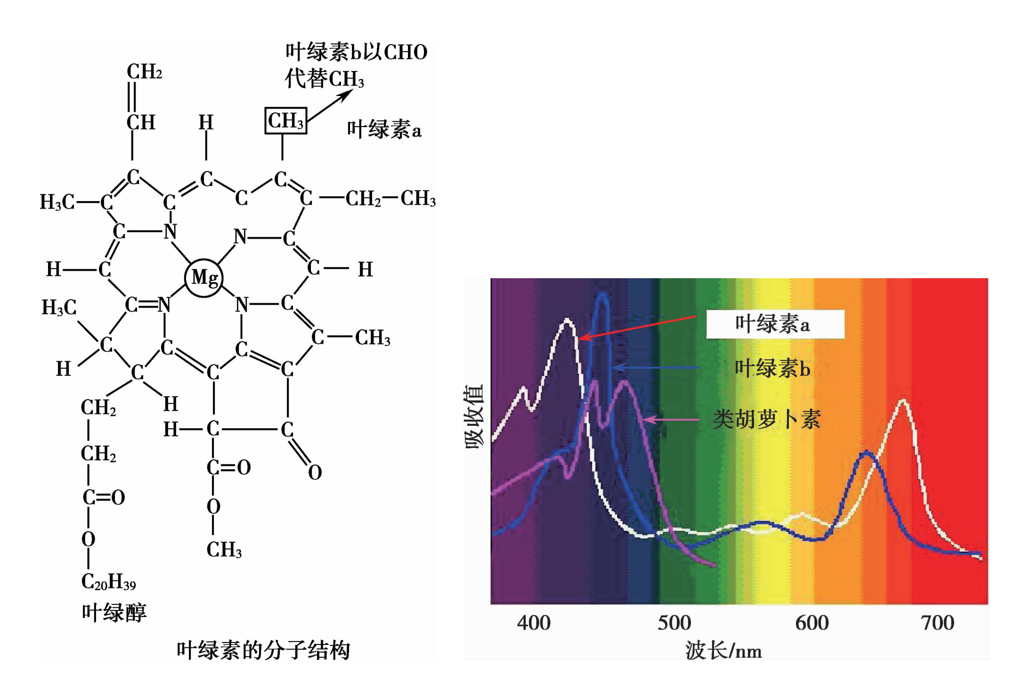


图 1　叶绿素的分子结构和不同植物色素的吸收光谱

是在一系列酶的严格作用下完成的[2]。故光照、温度、水分、营养元素和氧含量等因素均影响叶绿素的生物合成，这就不难解释为什么叶绿素的含量易于发生变化了。

类胡萝卜素通常是指 C_{40} 的碳氢化合物（胡萝卜素）和其氧化衍生物（叶黄素）两类色素的总称。它们在结构上由 8 个异戊二烯单位缩合而成（图 2），典型的 C_{40} 类胡萝卜素携带紫罗酮环，环上不同位置氢原子可被羟基、羰基、环氧基取代[3]。在植物中，类胡萝卜素担当叶绿体光合作用的辅助色素并保护叶绿素免受强光破坏的作用。与叶绿素的生物合成类似，类胡萝卜素的生物合成也是在一系列酶的严格调控和共同作用下进行的，其中的关键分支点造成不同的代谢产物，而使其呈现不同的外观颜色[4]，且类胡萝卜素相当稳定，是叶绿素的辅助色素之一。

类黄酮色素是一种自然界广泛存在的水溶性天然色素，是植物的主要呈色物质，主要包括花青素、黄酮类色素等。且以花青素在植物叶片中较为常见。花青素是可以随着细胞液的酸碱度而改变颜色的。花青素的基本结构母核是 2-苯基苯并吡喃，其核结构有双键存在（图 3），能吸收可见光而呈一定的颜色，在波长范围分别为 465～560nm 和 270～280nm 处有最大的光吸收。经由苯基丙酸途径和类黄酮合成途径生成，由许多代谢酶调控其催化反应[5]。大多数花青素在其花色基元的

3-，5-，7-碳位上有取代羟基，因 B 环所带羟基（—OH）数目、甲基化（methylation）数目、醣基化（glycosylation）数目、醣种类和连接位置等因素而呈现不同颜色（表 1）。花青素表现的颜色受生化环境条件的影响，如浓度、共色作用、液胞 pH 等。

β-胡萝卜素

叶黄素

图 2　类胡萝卜素的分子结构

图 3　花青素的基本结构

表 1　不同花青素的取代物和颜色

名称	R_1	R_2	R_3	颜色
天竺葵色素（Pelargonidin）	H	OH	H	红
矢车菊色素（Cyanidin）	OH	OH	H	蓝红
飞燕草色素（Delphinidin）	OH	OH	OH	蓝
矮牵牛花色素（Petundin）	OCH_3	OH	OH	紫蓝
锦葵花色素（Malvidin）	OCH_3	OH	OCH_3	紫

上述色素的协同作用可以解释很多自然界神秘的色彩现象。如枫树刚长出的嫩叶是红色的，继而变绿，脱落时再变红，尽管在整个生长季节，叶绿素都是这些叶片中吸收光能的主角，但花青素的变化促成如此多彩的变化。一般来说，为了使叶片快速发育成熟，嫩叶中总是聚集了大量的糖类、矿物质等营养元素，再加上柔软多汁，嫩叶就成了食草动物的首选目标。为了避免被啃食，有些植物在系统进化过程中使嫩叶中含有剧毒的氰化物作为防御武器，同时“亮”出红色的花青素作为警示标志。当叶片发育成熟时，坚硬的质地和粗糙的口感就足以打消食草动物的欲望，作为信号灯的花青素也就得以暂时休息。到了秋天，在落叶之前，植物需要把储存在叶片中的营养都搬回茎或根中，这就需要叶绿素继续工作一段时间，为搬运工作提供必要的能量。但是随着气温下降，阳光对叶绿素的破坏作用也会不断增强，这时花青素再次挺身而出，为叶绿素抵挡住一部分阳光，从而保证整个资源回收任务的圆满成功。秋季早晚温差比较大，植物叶片中糖分的积累增加，促进了花青素的合成，加之气候比较干燥，植物体内水分含量降低，花青素的浓度升高，原来绿色的叶片也就变成红色或橙红色。

尽管关于植物叶片颜色的构成和变化及内在色素转变机制等方面的研究已经取得了长足的进展，一些现象得以阐明。但不同色素的生物合成途径是什么，其调控位点如何确定？色素的进化途径是什么？如何将植物的叶片颜色变化更好地与其结构功能相联系？如何更好地维持特定的颜色现象？作为较强还原剂的植物色素如何采用植物组织培养技术进行大规模地生产等问题[6]，仍有待解决，因此对于植物叶片颜色的研究仍是今后植物学领域的一个重点。

参考文献

［1］ Feild TS，Lee DW，Holbrook NM. Why leaves turn red in autumn? The role of antho-cyanins in senescing leaves of red-osierdogwood. Plant Physiology，2001，127：566-574

［2］ Tanaka A，Tanaka R. Chlorophyll metabolism. Current Opinion in Plant Biology，2006，9：248-255

［3］ 刘薇，黄璜，杨超．植物花青素与生物学适应性关系研究进展．作物研究，2008，22（5）：319-322

［4］ Hirschberg J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. Current Opinion in Plant Biology，2001，4：210-218

［5］ Tanaka Y，Sasaki N，Ohmiya A. Biosynthesis of plant pigments：anthocyanins，betalains and carotenoids. Plant Journal，2008，54：733-749

［6］ Luo J，Nishiyama Y，Fuell C，et al. Convergent evolution in the BAHD family of acyl

transferases：identification and characterization of anthocyanin acyl transferases from *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal，2007，50：678-695

撰稿人： 卢从明
中国科学院植物研究所
审稿人： 匡廷云　黄　力

为什么豆科植物能够进行共生固氮作用?

Why Are Legumes Able to Fix Atmospheric Nitrogen Gas Through Symbiotic Association with Rhizobia?

生物固氮作用是指固氮微生物在常温常压下通过自身固氮酶的催化作用将空气中的氮气（N_2）转化为能被植物直接吸收的氨（NH_3）的过程，它为整个生物圈提供了主要的氮素来源。生物固氮作用包括自生、联合（内生）和共生三种形式。自生固氮作用是指固氮微生物（如蓝藻和肺炎克氏杆菌）分解自身的光合产物或者环境中的有机质作为能源，固定空气中的氮气为自己所用的过程。联合固氮作用是指生活在植物表面或者内部的固氮微生物（如巴西固氮螺菌），分解植物光合作用产物，同化空气中的氮气，作为自己和宿主氮素的过程。共生固氮作用是指生活在土壤里的固氮微生物（如根瘤菌），诱导宿主植物（如豆科植物大豆、豌豆、苜蓿、三叶草和紫云英）形成根瘤，并且通过侵染进入根瘤植物细胞，分化成类菌体后利用植物提供的光合产物作为碳源，通过固氮反应，为宿主提供氮源的过程。该种形式的固氮作用效率最高。

生物固氮反应由固氮酶 NifHDK 催化，同化 1 个分子氮气，消耗 16 个分子 ATP，生成 1 分子氨。由于固氮酶与氧分子结合，发生不可逆失活，而且其编码基因的表达受到氧浓度的严格控制，因此固氮反应必须在厌氧条件下进行[1,2]。不同固氮微生物通过定居在厌氧环境中或者形成异形胞（如蓝藻）或者与宿主植物形成共生根瘤（根瘤菌与豆科植物）等途径，创造厌氧环境，保证固氮酶正常工作。在分子水平上，固氮细菌通过 FixL-FixJ 双组分系统（two-component system）感受所在环境的氧浓度，调节 *nifHDK* 基因的表达[3]。生化研究发现，分离纯化的固氮酶，对氧高度敏感，极其不稳定，从而限制了其作为生物催化剂大规模应用于工业生产。如何克服固氮酶的氧敏感性以及不稳定性是生物固氮研究领域的一个难题。

在自然界，豆科植物的根系分泌特定的类黄酮类化合物，它们与亲和匹配的根瘤菌中的 NodD 蛋白相结合，激活结瘤（*nod*）基因表达，合成脂寡糖信号分子——结瘤因子（Nod factor）。该分子作用于对应的宿主豆科植物，导致表皮细胞去极化，钙离子震荡，根毛变形、卷曲、侵染线（根瘤菌进入宿主植物细胞的通道）起始、皮层细胞去分化后再分裂，从而形成根瘤原基[4]。结瘤因子是目前根瘤菌-豆科植物共生固氮系统中发现的最重要的信号分子，其信号传导途径的研究是共生固氮研究中的热点问题。研究发现，结瘤因子可能与宿主植物细胞膜上的

LysM受体激酶结合，将胞外信号传导至胞内。参与结瘤因子信号途径的有钙离子通道蛋白、亮氨酸丰富的蛋白激酶、钙离子和钙调素结合受体激酶、磷脂酶 C、磷脂酰肌醇和多个转录因子[5]。进一步的研究发现，结瘤因子信号途径与丛枝菌根（arbuscular mycorrhizal，AM）真菌的信号传导途径存在重叠，而 AM 真菌可以侵染多数陆生植物[6]。还有研究发现，多个参与结瘤因子信号传导的蛋白质，其同源基因也出现在非豆科作物中[7]，这些基因甚至可以互补豆科植物突变体所产生的不结瘤表型。这些发现启发人们思考这样一个问题：能否通过阐明根瘤菌与豆科植物之间共生相互作用的分子机理，将豆科植物中的共生固氮相关基因转移到非豆科经济作物中去，培育出可以共生固氮的非豆科经济作物新品种?

实际上，根瘤菌与豆科植物之间的共生相互作用是复杂多样的。研究发现，很多根瘤菌除了合成结瘤因子以外，还需要形成特定的胞外多糖，才可以成功地侵染宿主豆科植物，形成固氮根瘤[8]。根瘤菌胞外多糖在结瘤过程中的作用机制是共生固氮研究领域的新问题。另外，少数根瘤菌不合成结瘤因子，也能够成功地诱导宿主豆科植物结瘤固氮[9]。因此，这些根瘤菌可能合成了新的信号分子。那么，根瘤菌与宿主豆科植物在共进化过程中为什么选择不同的分子进行信息交流?

随着人口的增加，为了满足不断增长的粮食需求，通过大量或者过量的使用工业氮肥，来增加粮食作物的产量。一方面消耗了大量的不可再生资源，另一方面污染了土壤和江河湖海，对农业、经济和社会的可持续发展造成严重的威胁。解决这一难题的一条途径就是应用生物固氮作用获得农业生产所需要的大部分氮肥。想做到这一点，至少需要解决以下两个问题：①克服固氮酶的氧敏感性和不稳定性，将其发展成可以大规模使用的生物催化剂；②全面、深入地揭示共生固氮作用的分子机制，培育可以共生固氮的经济作物新品种。

参 考 文 献

[1] Petering D，Fee JA，Palmer G. The oxygen sensitivity of spinach ferredoxin and other iron-sulfur proteins. The formation of protein-bound sulfur-zero. J Biol Chem，1971，246（3）：643-653

[2] Bulen WA，LeComte JR. The nitrogenase system from *Azotobacter*：two-enzyme requirement for N2 reduction，ATP-dependent H2 evolution，and ATP hydrolysis. Proc Natl Acad Sci USA,1966，56（3）：979-986

[3] David M，Daveran ML，Batut J，et al. Cascade regulation of nif gene expression in *Rhizobium meliloti*. Cell，1988，54（5）：671-683

[4] Oldroyd GE，Downie JA. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. Annu Rev Plant Biol，2008，59：519-546

[5] Crespi M，Frugier F. De novo organ formation from differentiated cells：root nodule organogenesis. Sci Signal，2008，1（49）：re11

［6］ Seddas PM，Arias CM，Arnould C，et al. Symbiosis-related plant genes modulate molecular responses in an arbuscular mycorrhizal fungus during early root interactions. Mol Plant Microbe Interact，2009，22（3）：341-351
［7］ Gutjahr C，Banba M，Croset V，et al. Arbuscular mycorrhiza-specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. Plant Cell，2008，20（11）：2989-3005
［8］ Gibson KE，Kobayashi H，Walker GC. Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. Annu Rev Genet，2008，42：413-441
［9］ Giraud E，Moulin L，Vallenet D，et al. Legumes symbioses：absence of Nod genes in photosynthetic bradyrhizobia. Science，2007，316（5829）：1307-1312

撰稿人：罗　利
中国科学院上海生命科学研究院
审稿人：黄　力　匡廷云

真菌的祖先是谁?

Who Are the Ancestors of Fungi?

真菌、绿色植物和动物这三大支系被认为起源于单细胞、有鞭毛的水生生物并逐渐在陆地上大量繁衍。对于植物和动物，生物学家对其形态进化和生态学已经形成统一的假说。植物的祖先被认为是形态单一的光合生物（如单细胞绿藻），由此衍生出多细胞生物（苔藓植物），并逐渐进化出开花植物[1]。同样，动物的祖先被认为是细胞结构简单、有鞭毛的原生动物类生物，类似现存的鞭毛虫目（Choanoflagellida），并逐渐演化为组织结构复杂的动物类群[2]。真菌的祖先被认为是具有鞭毛的简单水生生物，类似现存壶菌门（Chytridiomycota）成员。现在的分类观点认为壶菌（chytrid）是真菌界中的最早形成的单一进化支系，这一类群丧失孢子鞭毛后逐渐演化出陆生真菌。然而，Janmes 等[3]利用 6 个基因片段分析近 200 种真菌的系统亲缘关系表明，在真菌界中至少存在 4 个丧失鞭毛的支系；游动孢子丧失后进化出孢子扩散的新机制，如丝状真菌孢子的空气传播。对于真菌的祖先及其进化、真菌的系统发育至今仍是悬而未决的科学难题。

真菌的起源、进化和系统发育一直是研究热点。这一问题涉及真菌、植物和动物间的系统亲缘关系，进而质疑“光合自养型生物是生命的起源，因为它们可以作为异养型生物的食物”这一生命起源观点。然而由于真菌的结构很难形成完整的化石，目前记录的真菌化石很少，给真菌的起源和系统发育史研究提供的参考数据非常有限，现存真菌种类的形态学特征仍然是主要的参考依据。这导致对真菌的起源和进化提出了不同的观点，很难形成共识。

1. 传统的真菌起源观点

目前真菌学家所跟随的真菌起源理论仍然是 20 世纪初期的理论。这个理论认为真菌起源于海藻的特定类群，这类海藻丧失光合作用后进化为鞭毛真菌（flagellate fungi）。游动的鞭毛真菌进一步进化为静态真菌（rest of fungi），且静态真菌的祖先被认为是壶菌门（Chytridiomycota）的成员，孢子进化为单鞭毛的游动孢子（zoospore）。这种壶菌祖先是水生的，但经过长期进化变得适应陆生环境。进而，孢子的鞭毛丧失，衍生出产生接合孢子（zygospore）的接合菌门（Zygomycota）真菌。这门真菌产生不运动的、无性孢囊孢子（sporangiospore），其中的一个支系通过配子囊（gametangia）的融合产生多核的有性接合孢子，如

Rhizopus stolonifer。这一支系最原始的祖先被认为是产生较大、单生、具囊轴、多孢的孢子囊，与毛霉（mucor）或根霉（rhizopus）形态极为相似。这一类群衍生出孢囊孢子减少、囊轴丧失的小孢子囊类群，如产生单孢的小克银汉霉属（*Cunninghamella*）。随着进化进程的进一步发展，接合菌门的这一类群逐步进化出产生分子孢子的真菌，逐步进化出子囊菌门（Ascomycota）和担子菌门（Basidiomycota）真菌。20 世纪 60 年代前，真菌的这一单源进化模式理论一直被多数真菌学家所沿用。

2. 现在的真菌系统发育观点

随着先进分子技术的发展，研究真菌各种类群间的进化与亲缘关系取得了长足发展。黏菌的集胞黏菌门（Acrasiomycota）、网柱黏菌门（Dictyosteliomycota）和黏菌门（Myxomycota）之间被认为没有直接的联系，尽管这三个类群都有变形虫阶段和噬菌作用。然而，由于变形虫吞食细菌细胞，在其整个生活史中获得纯的黏菌基因组 DNA 是不可能的，因此，上述观点无法得到分子证据的支撑。除了 Mims 和 Blackwell，多数真菌学家根据形态学特征认为黏菌与真菌没有联系。

根据 rDNA 序列分析构建的系统树表明：壶菌门（Chytridiomycota）被归属于真菌界（Myceteae）；裸菌门（Oomycota）与金藻门（Chrysophyta）和褐藻门（Phaeophyta）被归属于金黄藻菌鞭毛菌界（Stramenopila）；黏菌的不同类群间亲缘关系更远。在这个系统中，真菌高级分类阶元间的亲缘关系比以前更清楚，但低级分类阶元间的关系更加混乱。DNA 分子证据不支持以前认为的双足囊菌属（*Dipodascopsis*）作为接合菌门（Zycomycota）进化到子囊菌门（Ascomycota）的祖先。因此，这两个门间的联系在这一系统中已经找不到。此外，产子囊酵母（ascosporogenous yeast）是单源起源的观点在这被证明是不正确的。酵母目（Saccharomycetale）的成员不再以单源支系出现，与其他的产子囊酵母有较远的亲缘关系。

担子菌门（Basidiomycota）内各类群间的亲缘关系变得更加复杂。原来根据担孢子（basidium）形态建立的各分类单元间的亲缘关系得不到 DNA 分析证据的支持。而认为隔膜孔结构（septal pore apparatus）替代担孢子形态更能反应担子菌门内各分类单元间的亲缘关系。

3. 细胞结构、生物化学特征所支持的真菌起源与进化

真菌的起源是一个重要而有趣的科学问题。这一问题与生命起源问题有密切联系。早期的理论认为真菌起源于植物。这一理论的依据在于异养型生物（hetero-

trophic organism）以光合自养型生物（photosynthetic organism）为食物，所以在进化上后者应该早于前者。从形态学上看，藻类在植物中是最简单、最远古的。因此，真菌被认为是藻类丧失叶绿素后产生的[4]。对这一假说学术界有不同的声音，怀疑的理由是：在地球上开始出现生命时的大气条件与现在的条件不尽相同；除了光合自养型生物之外，有些营养缺陷型生物（如固氮菌）已经早于植物存在，可以作为营养物质。真菌与藻类的联系基于它们之间有一定的相似性。但是，在生物化学发展初期，真菌与藻类间的显著生理差异已经引起注意[5]。除了生理差异，真菌与藻类在核相、细胞组织和发育等方面的差异也未得到充分的解释。真菌起源于植物或藻类被认为比起源于原生动物（protozoa）这一单细胞的动物祖先需要更多的持续性进化改变（successive evolutionary change）[5]。生化特征证据非常有力地支持"真菌-动物为同一进化支系"这一观点。首先，真菌的多种蛋白质序列数据与动物的相应蛋白有很高的同源性。真菌许多种类的生长因子-3（elongation factor 3，EF-3）与动物肌浆球蛋白（myosin）至少有 10 个区域的氨基酸序列是相似的，而肌浆球蛋白的细胞功能是与肌动蛋白（actin）一起给肌肉提供运动力量。EF-3 还与哺乳动物的肌浆球蛋白 *MYO-1* 基因表达产物非常相似，*MYO-1* 基因是肌浆球蛋白的费肌肉细胞成分，其明确的细胞功能尚未被报道[6]。此外，在真菌生长因子的翻译中，α-EF-1 与人的 α-EF-1 蛋白有 81％的相似性。真菌与动物的相似性还体现在多不饱和脂肪酸（polyunsaturated fatty acid）的生物合成方面。目前认同的合成多不饱和脂肪酸合成途径有两条：一条是生成 α-亚麻酸，另一条是生成 γ-亚麻酸和花生四烯酸。前一途径主要存在于高等植物中，不存在于原生动物（protozoa）和后生动物（metazoa）中[7]；而 γ-亚麻酸由动物合成。研究表明，31 种子囊菌和担子菌只产生 γ-亚麻酸，不产生 α-亚麻酸[7]。

真菌与动物的相似性还体现在细胞色素（cytochrome）系统方面。代表真菌主要分类单元的 45 种真菌的细胞色素系统结构与哺乳动物和鸟类细胞的很相似，而与绿色植物的差异很大。真菌和后生动物都有 b-型和 c-型细胞色素，而高等植物中没有。与植物不同，而与动物相似，真菌的线粒体密码"UGA 编码色氨酸，而非链的终止子"[8,9]。真菌和动物的线粒体在形态和细胞结构特征上很相似。二者的线粒体脊为盘状，而植物的为管状。真菌和动物都缺少质体（plastid），而植物却有质体[8]。微纤维（microfibril）和多聚糖（polysaccharide）结构是支持真菌和动物相似的又一证据。真菌的细胞壁成分主要是多聚糖，几丁质（chitin）是多聚糖的主要特征。真菌的几丁质是由 B-14，4 键连接 *N*-乙酰糖胺单位构成的不分支聚合体，这与高等动物不同。几丁质在原生动物和高等动物中也存在。真菌的几丁质为 α-型，而非 β-型；α-型几丁质在动物中同样非常丰富[10]。真菌的多聚糖微纤维是随机导向的，而植物和藻类的微纤维是向下排列的[10]。用含氮的一种碱降解真菌多聚糖会产生乙酸，这有别于植物多聚糖用相同化合物降解的反应。真菌和植物

多聚糖在其他几种化学反应中的特性也不相同[10]。

真菌和动物都因缺少叶绿体（chloroplast）而没有光合作用，而光合作用在植物中非常普遍和重要，是植物的食物源。真菌不产生叶绿素，因此，植物、动物和真菌的营养方式可以概括为：植物依靠光合作用，动物依靠摄取，真菌依靠吸收。真菌为了利用环境中的营养物质，向体外分泌酶类降解基质为其可以吸收的营养物质，并通过细胞壁吸收进入胞内。营养物质通过细胞膜进入细胞质，在特定位置进一步被胞内酶作用，并与金属离子或其他化合物生成细胞质和细胞壁物质[11]。这种在胞外分解食物，进而通过质膜吸收营养物质而把残渣留在胞外的营养方式是过去把真菌作为植物的一种特征。然而，这一观点忽视了原生动物和蠕虫也存在类似的营养方式[4]；也忽视了一些真菌在其变形虫阶段由于缺乏细胞壁，其获得营养主要靠吞噬（phagocytosis）[12]。

真菌与动物不仅在营养方式上有相同之处，在储存营养物质方面也相同。与许多真核生物一样，真菌可以储存脂肪类碳源[12]；然而，真菌、细菌、原生动物和高等动物的另一种碳源储存方式是多聚糖糖苷，而植物则以淀粉的方式储存[10]。

综上所述，真菌的起源与进化问题与植物、动物与真菌三者之间的系统亲缘关系密切相关，而三者之间的亲缘关系至今仍存在争议。在此错综复杂的关系下探讨真菌的祖先起源与进化显然很难获得令人信服的结论。因此，研究真菌的祖先、进化及系统发育关系将对整个生物界分类系统的进一步认识有着极其重要的意义；同时，这一领域的研究将对发挥真菌作为重要的可再生资源在生态系统、人类健康和社会进步等领域的重要作用有深远的意义。

参 考 文 献

[1] Karol KG，McCourt RM，Cimino MT，et al. The closest living relatives of land plants. Science，2001，294：2351-2353

[2] Lang BF，O'Kelly C，Nerad T，et al. The closest unicellular relatives of animals. Curr Biol，2002，12：1773-1778

[3] James TY，Kauff F，Schoch C，et al. Reconstructing the early evolution of the fungi using a six gene phylogeny. Nature，2006，443：818-822

[4] Martin GW. Are Fungi Plants? Mycologia，1955，47（6）：779-791

[5] Sussman. The Fungal Organism. Vol. 2. New York：Academic Press，1966，650-653

[6] Belfield GP. Translation elongation factor-3（EF-3）：An evolving eukaroyotic ribosomal protein. Journal of Molecular Evolution，1995，41（3）：376-387

[7] Le John HB. Evolutionary Biology：Biochemical Parameters of Fungal Phylogenetics. Vol. 7. N. Y. and London：Plenum Press，79-120

[8] Cavalier-Smith T. 1987. The Origin of the Fungi and Pseudofungi. Cambrige：University Press，340-376

［9］ Scazzochio C. The Natural History of Fungal Mitochindrial Genomes. Cambridge：University Press，1987，154-195

［10］ Ruiz-Herrera J. Fungal cell wall：Structure，synthesis，and assembly. Florida：CRC Press，1992，91-120

［11］ Cooke WB. The Ecology of Fungi. Boca Raton：CRC Press Inc，1979

［12］ Carlile MJ，Watkinson S. The Fungi. Ltd. San Diego：Academic Press，1994

撰稿人：莫明和　张克勤

云南大学

审稿人：刘杏忠　黄　力

人造化合物微生物降解途径是如何形成和演化的？

Microbial Degradation of Human-made Compounds：
How Does It Generate and Evolve?

化学合成是近代化学家的发明专利，化学家合成了五颜六色的颜料让世界变得五彩缤纷。化学家合成了高分子材料，于是汽车奔驰田野，飞机翱翔天空，轮船勇击长流，这一切的实现有赖于：自 1828 年化学家合成尿素之后，成千上万种化合物被人工合成。在这些人工合成的化合物中，有些是模仿自然界中存在的化合物，如尿素（尿素本来就是高等生物体内产生的一种化合物）；有些化合物则是人类的创造和发明，自然界原本不存在这些化合物，如六六六、滴滴涕等氯代化合物和许多硝基取代化合物（如炸药 TNT 等），这里我们暂且把这些化合物称之为人造化合物。

人造化合物给人类生活带来许多便利和益处。六六六、滴滴涕等杀虫剂曾经在蝗虫、稻螟虫、小麦吸浆虫等病虫害防治和消灭蚊、蝇、臭虫等传播疾病方面发挥过无与伦比的作用，功不可没。但是，如果这些人造化合物不能在自然环境中分解和转化，它们就会在环境中积累，最终产生严重的环境问题。早在 1962 年，美国海洋生物学家 Rachel Carson 发表著作《寂静的春天》，书中指出滴滴涕进入食物链后会不断富集，最终会在食物链顶端的动物如游隼、秃头鹰和鱼鹰等体内富集，致使其生殖功能紊乱，结果使一些食肉和食鱼的鸟类接近灭绝。那么，人造化合物在自然界中是如何被分解和转化的呢？

微生物是自然生态系统中物质元素循环过程中的主要分解者，同样也是分解和转化人造化合物的主角。例如，硝基苯、氯代硝基苯[①]等是人造化合物，人类合成这些化合物的历史大约一百多年。研究表明，硝基苯、氯代硝基苯可以被微生物降解，其降解过程和降解途径如图 1 所示。

到目前为止，人类至少部分了解了微生物形成这种降解能力和代谢途径的方式。其中，方式之一就是转座子[②]介导的基因横向转移，也就是参与代谢某种化合物的基因从一种微生物转移到另外一种微生物，后一种微生物通过把基因改造并与

① 硝基苯、氯代硝基苯属高毒性物质，可经呼吸道、消化道和皮肤侵入人体。主要作用于血液、肝及中枢神经系统，可使血红蛋白变为高铁血红蛋白，失去运输氧的能力，引起缺氧，并且是潜在的致癌化合物。

② 转座子是指能够在一个 DNA 分子内部或两个 DNA 分子之间移动的 DNA 片段，可在质粒之间、质粒和染色体之间、质粒和转导的噬菌体之间来回转移，引起在细菌间进行 DNA 交换。

细胞固有的一些代谢途径组合，产生一种新的降解能力和代谢途径。科学家已经发现了基因横向转移的证据，这些证据包括转座子整合或者基因重组后的残存 DNA 片段等。以氯代苯降解途径为例，在假单胞菌 PS51 菌株、布克霍尔德菌 PS12 菌株和罗尔斯通氏菌 JS705 菌株中，氯代苯的降解途径起源于转座子介导的一个底物范围广的羟化双加氧酶基因和二氢二醇脱氢酶基因横向转移[1]；在假单胞菌 PS51 菌株中，这两个基因整合到了甲基邻苯二酚降解途径基因簇附近，组合形成氯代苯的降解途径[2]。睾丸酮丛毛单胞菌代谢氯代硝基苯的降解途径，可能包括了更多的转座子介导的基因横向转移，研究发现了代谢氯代硝基苯的基因簇中保留有多个转座酶基因片段（图 1B），这些残存片段被认为是发生基因横向转移过程的证据[3]。

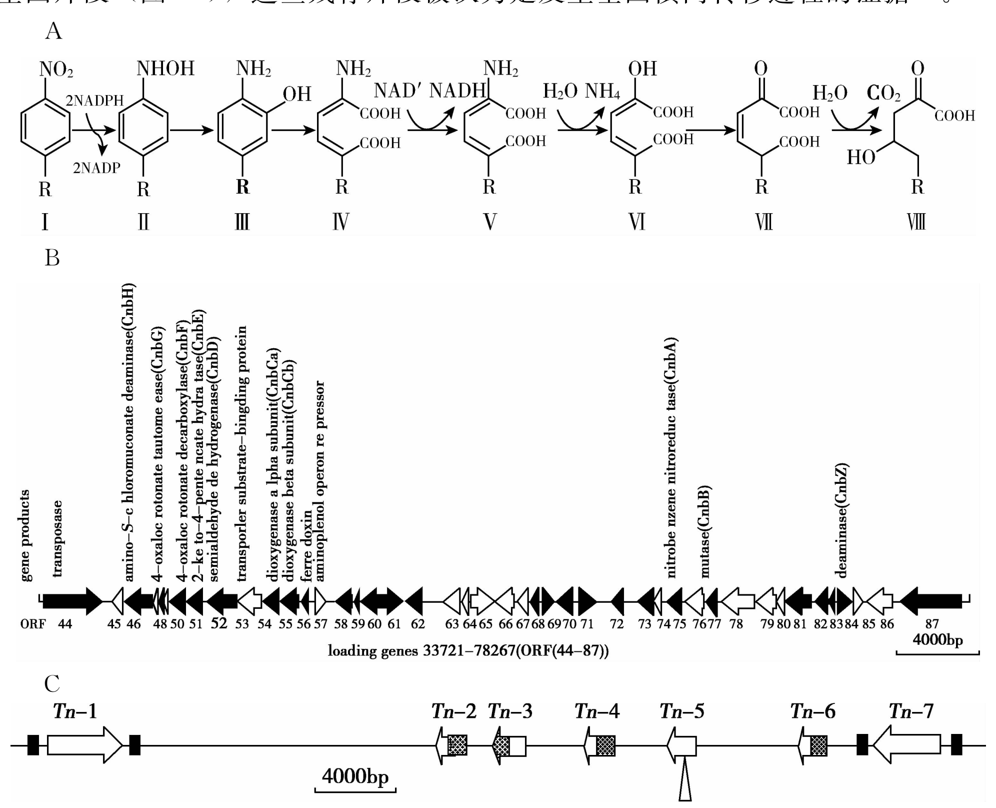


图 1　微生物降解硝基苯、氯代硝基苯的代谢途径（A）、降解基因簇组织结构（B）和降解基因簇中残存转座酶基因片段（C）

图 A：R＝H，硝基苯；R＝Cl，4-氯代硝基苯。化合物名称如下：Ⅰ，（4-氯代）硝基苯；Ⅱ，1-羟胺基-（4-氯代）苯；Ⅲ，2-氨基-（5-氯代）苯酚；Ⅳ，2-氨基-（5-氯代）粘糠酸半醛；Ⅴ，2-氨基-（5-氯代）粘糠酸；Ⅵ，2-羟基-（5-氯代）粘糠酸；Ⅶ，2-酮-（5-氯）-3-烯己二酸；Ⅷ，2-酮-（5-氯）-4-羟基戊酸。图 C：基因阴影表示残存的转座酶基因片段，空心部分是缺失部分。转座子名称不代表其分类此图根据睾丸酮丛毛单胞菌降解途径和降解质粒上降解基因簇组织结构修改而成，原图参见文献[5]、[6]

除了通过基因横向转移后组合产生新的代谢途径这种方式之外，基因进化导致功能变化也是形成新的代谢途径和降解能力的方式之一。研究氯代硝基苯降解途径时发现，睾丸酮丛毛单胞菌中2-氨基-5-氯代粘糠酸脱氨酶基因（*cnbH*）可能由一种氨酰tRNA氨基转移酶的A-亚基基因进化而来，该脱氨酶对底物2-氨基-5-氯代粘糠酸亲和力不高、催化效率低[4]，表明该基因依然处在形成一个高效、高选择性脱氨酶的进化过程之中。

关于人造化合物的降解途径，我们还有更多的问题有待研究，如下是几个例子：①微生物降解人造化合物的代谢进化是主动过程，还是被动过程？换言之，任何一种人造化合物都可能成为微生物生长的碳源、氮源等潜在营养物质，那么，人造化合物究竟是微生物进化的动力，还是仅仅起到了选择的作用？②是微生物降解代谢途径进化快，还是人类制造和发明人造化合物的速度快？这两个过程对人类生活和生存会产生什么样的影响？③人造化合物是否加快了微生物进化速度和整个地球生态系统的演化速度？等等。

研究人造化合物的微生物降解途径如何进化，对于认识微生物代谢多样性、改造微生物服务环境保护、发展绿色生物制造技术等具有重要意义。如上所述，虽然科学家已经发现了人造化合物降解途径进化的一些证据和提出了一些进化方式，但是，随着化学家合成更多的人造化合物，随着微生物本身不断适应人造化合物，科学家一定会发现更多的降解途径，并提出新的进化方式。

参 考 文 献

［1］ Johnson GR，Spain JC. Evolution of catabolic pathways for synthetic compounds：bacterial pathways for degradation of 2，4-dinitrotoluene and nitrobenzene. Appl Microbiol Biotechnol，2003，62：110-123

［2］ Werlen C，Kohler H-PE，van der Meer JR. The broad substrate chlorobenzene dioxygenase and cis-chlorobenzene dihydrodiol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp. strain P51 are linked evolutionarily to the enzymes for benzene and toluene degradation. J Biol Chem，1996，271：4009-4016

［3］ Ma YF，Wu JF，Wang SY，et al. Nucleotide sequence of plasmid pCNB1 from *Comamonas* sp. strain CNB-1 reveals novel genetic organization and evolution for 4-chloronitrobenzene degradation. Appl Environ Microbiol，2007，73：4477-4483

［4］ Wu JF，Jiang CY，Wang BJ，et al. A novel partial reductive pathway for 4-chloronitrobenzene and nitrobenzene degradation in *Comamonas* strain CNB-1. Appl Environ Microbiol，2006，72：1759-1765

［5］ Wu GF，Jiang CY，Wang BJ，et al. Novel Partial Reductive Pathway for 4-Chloronitrobenzene and Nitrobenzene Degradation in *Comamonas* sp. Strain CNB-1. Applied and Environmental Microbiology，2006，72（3）：1759-1765

［6］ Ma YF，Wu JF，Wang SY，et al. Nucleotide Sequence of Plasmid pCNB1 from *Comamonas* Strain CNB-1 Reveals Novel Genetic Organization and Evolution for 4-Chloronitrobenzene Degradation. Applied and Environmental Microbiology，2007，73（14）：4477-4483

撰稿人：刘双江

中国科学院微生物研究所

审稿人：黄　力　东秀珠

极端嗜热微生物如何适应高温生长环境?

How Hyperthermophiles Adapt to Living in Hot Environments?

在这个星球上，微生物界定了生命能够繁衍的温度范围。极端嗜热微生物指的是那些最适生长温度≥80℃的微生物。这些微生物代表了生命对于高温的极限适应能力。极端嗜热微生物多生活于陆地高温热泉、海底热溢口和深部地下等环境。由于生命的繁衍离不开液态水，因此，超过100℃的微生物生活环境都是在高压之下。在极端嗜热微生物中，最为嗜热的多为古菌（一种与细菌和真核生物具有相同分类学地位的特殊生命形式，被称为第三种生命形式）。目前已知的最耐高温细菌是2004年发现的一种被称之为菌株121的极端嗜热古菌[1]。该菌因其最高生长温度为121℃而得名（121℃通常是医学和生物学中用来进行消毒灭菌的温度）。为了确定生命的温度上限，有人对海底热溢口微生物的生长情况进行了研究。海底热溢口喷出的热液的温度可达250～350℃，与周围的低温海水平衡后形成温度梯度。研究发现，在放置于125～140℃的固体表面上可以形成微生物菌落，但在200℃以上则无微生物生长迹象。对生物分子的热稳定性研究也提示，生命过程能够耐受的极限温度可能不高于150℃。极端嗜热微生物对于高温环境的适应并非仅由一个或几个基因所决定，而是涉及其细胞结构、组成和生物学过程等方面。研究发现，极端嗜热微生物的染色体、蛋白质、细胞表面和细胞内环境等均具有独特的热适应特征。

那么，生活在接近、甚至超过其DNA解链温度（T_m）的极端嗜热微生物是如何维持其染色体的热稳定性的呢？不同的嗜热微生物可能采用不同的机制。极端嗜热古菌的DNA呈松弛状态或略带正超螺旋，与负超螺旋DNA相比，松弛或正超螺旋DNA可能具有更高的热稳定性，且不易发生非特异变性[2]。与此相一致，极端嗜热微生物合成一类特殊的拓扑异构酶，即逆旋转酶。该酶被认为是嗜热微生物的特征之一。逆旋转酶能够在环状DNA中引入正超螺旋，还能够识别DNA缺刻，并覆盖缺刻位点，减少高温条件下的DNA损伤[3]。古菌染色体蛋白（如古菌组蛋白、Sul7d、Cren7等）能够提高DNA的解链温度[4]，维持染色体DNA在高温条件下的稳定。极端嗜热产甲烷菌细胞质中含有大量的2,3-二磷酸甘油酸钾。这种溶质，特别是钾离子能够减少DNA在高温条件下更容易发生的脱嘌呤等化学损伤。

关于极端嗜热微生物RNA热稳定机制的研究相对较少。有意思的是，极端嗜热古菌细胞中的mRNA的半衰期可能比嗜温（最适生长在常温环境）微生物的

长[5]。在这些生物中发现的 tRNA 的转录后特殊修饰，以及高度保守的 RNA 结合蛋白（如 Sac10b 家族蛋白[6]）等可能与 RNA 的热稳定性有关。

极端嗜热微生物所合成的蛋白质通常具有很强的热稳定性，所合成的酶通常在高温下表现最适活性。与来自嗜温菌的蛋白质相比，极端嗜热微生物中的蛋白质的氨基酸组成存在一定的偏好性，例如，含较多的脯氨酸、精氨酸、谷氨酸等残基。因来源和类型而异，极端嗜热微生物的蛋白质经常具有较多的疏水相互作用、离子相互作用、亲水相互作用、二硫键和金属离子结合位点；构象具有刚性较强、结构致密、低张力等特点；有时还发生糖基化、磷酸化和甲基化修饰。这些特点可能与蛋白质的热稳定性有关[4,7]。

极端嗜热微生物的细胞表面也体现了这类生物对于高温的适应性。极端嗜热古菌细胞的膜脂由甘油醚构成，如由甘油与 C_{40} 植烷醇通过稳定的醚键形成的双植烷双甘油四醚，具有在高温下抗水解的能力。膜脂形成中间为 C_{40} 烃链核心、两个表面具有亲水性的单层膜。C_{40} 烃链部分易发生环化，环化程度与生长温度呈正相关。烃链中的环化结构限制了细胞膜的流动性，有利于其在高温下的稳定性。细菌细胞膜为脂肪酸甘油脂形成的双层膜。极端嗜热细菌细胞的膜脂通过用较长的烷烃链、改变异/反异支链的比例以及增加饱和烷烃链的含量，从而维持高熔点的液晶态，具有较好的高温稳定性[8]。极端嗜热古菌的细胞壁通常由热稳定的蛋白质或糖蛋白组成，具有较高的热稳定性。不同极端嗜热古菌的细胞壁组成存在差异，极端嗜热古菌的耐热特性与细胞壁类型有明显的相关性[9]。

随着技术手段的不断进步，人们对于极端嗜热微生物热适应机制的认识也在不断深入，但距离系统完整地了解生命的这一极端适应现象还有很长的路程。在目前所发现的热适应机制中，有很多不具有普适性。除了生物大分子以外，细胞中一些重要小分子的热稳定性被认为可能决定了生命的温度上限。例如，能量代谢中两个关键化合物——ATP 和 NAD^+，在高温下很快发生水解（120℃时的半衰期不到 30min）。那么，生命能够耐受的最高温度究竟是多少？生命在对高温环境的适应进化过程中形成了哪些机制？人们是否有可能通过认识这些机制改变生物的热适应性？可以确信的是，对于极端嗜热微生物热适应性的探讨不仅有助于认识生命与地球的共进化，寻找可能存在的地外生命，同时也有助于生物技术的创新，获得有价值的、具有独特性能的生物产品或生物活性物质。

参 考 文 献

[1] Cowan DA. The upper temperature for life-where do we draw the line? Trends in Microbiology，2004，12：58-60

[2] Heine M，Chandra SB. The linkage between reverse gyrase and hyperthermophiles：a review of their invariable association. J Microbiol，2009，47：229-234

[3] Kampmann M，Stock D. Reverse gyrase has heat-protective DNA chaperone activity independent of supercoiling. Nucleic Acids Res，2004，32：3537-3545

[4] Daniel RM，Cowan DA. Biomolecular stability and life at high temperatures. Cell Mol Life Sci，2000，57：250-264

[5] Bini E，Dikshit V，Dirksen K，et al. Stability of mRNA in the hyperthermophilic archaeon Sulfolobus solfataricus. RNA-a Publication of the RNA Society，2002，8：1129-1136

[6] Guo R，Xue H，Huang L. Ssh10b，a conserved thermophilic archaeal protein，binds RNA in vivo. Molecular Microbiology，2003，50：1605-1615

[7] Li WF，Zhou XX，Lu P. Structural features of thermozymes. Biotechnol Adv，2005，23：271-281

[8] Konings WN，Albers SV，Koning S，et al. The cell membrane plays a crucial role in survival of bacteria and archaea in extreme environments. Antonie Van Leeuwenhoek，2002，81：61-72

[9] 曹军卫，沈萍，李朝阳．嗜极微生物．武汉：武汉大学出版社，2004，183-188

撰稿人：郭　莉　黄　力

中国科学院微生物研究所

审稿人：向　华　沈　萍

卵胎生和温度性别决定在爬行动物中是否具有进化兼容性?

Are Viviparity and Temperature-dependent Sex Determination Evolutionarily Compatible in Reptiles?

爬行动物中有卵生（oviparity）或卵胎生（viviparity）繁殖模式，以及遗传型性别决定（genotypic sex determination，GSD）或环境性别决定（environmental sex determination，ESD）两种性别决定模式。卵胎生种类从卵生祖先进化而来，在爬行动物中卵胎生仅见于蛇、蜥蜴和蚓蜥等有鳞类。直觉上，爬行动物繁殖模式从卵生到卵胎生的进化转变与高纬度或高海拔的冷气候环境有关。然而，适应低温环境并非是卵胎生进化的唯一原因，此观点的依据是：①尽管高纬度或高海拔冷气候区卵胎生种类的相对比例较高，但卵胎生爬行动物也常见于低纬度或低海拔的温暖气候区，且温暖气候区卵胎生物种的绝对数量超过冷气候区；②不同气候区卵胎生繁殖模式的进化选择利益（优化后代表型从而强化后代适合度和亲体繁殖利益）并无差别[1]。环境性别决定主要是温度性别决定（temperature-dependent sex determination，TSD），最近有人认为 GSD 和 TSD 并没有绝对界限，进而提出 GSD-TSD 连续谱的概念[2]，并在蜥蜴中发现了多因子性别决定现象[3-5]。爬行动物的繁殖和性别决定模式具有比其他脊椎动物更为丰富的进化起源，即便同属甚至同种动物也可能具有不同的繁殖模式，即便亲缘关系很近的物种也可能具有不同的性别决定模式[1,6]。因此，爬行动物（尤其是有鳞类）是研究脊椎动物繁殖模式和性别决定系统的理想材料。

无论属何种繁殖模式，爬行动物的胚胎发育成功率和后代表型均受孵化温度（卵生种类）或雌体孕期体温（卵胎生种类）的影响[4,7]。与卵生种类不同的是，卵胎生雌体具有通过体温调节为胚胎发育提供适宜热环境的潜力[8]。无论属何种性别决定模式，爬行动物胚胎发育初期的性腺在形态和组织学方面并无两性差异。在 TSD 种类（所有鳄、楔齿蜥、许多龟鳖和部分蜥蜴）中，雌雄性腺之后的分化受胚胎发育所处的热环境影响[9]。在卵生种类中发现，性别分化发生在胚胎发育全程约中间 1/3 时期。此后，性腺的形态和组织学特征及生殖管道的两性差异越来越显著。卵胎生雌体可通过体温调剂使孕期体温相对稳定，若为 TSD 性别决定模式，则更有可能产生不利于种群延续的单一性别的后代。因此，人们曾认为卵胎生和 TSD 是互为冲突的进化事件而忽视了卵胎生与 TSD 进化兼容性的研究[10]。近年来，南水石龙子 *Eulamprus tympanum*[11]、黄腹石龙子 *Eulamprus*

heatwolei[12]、斑雪石龙子 *Niveoscincuso cellatus*[13]和印度蜓蜥 *Sphenomorphus indicus*[14]等 4 种卵胎生石龙子科蜥蜴被陆续报道为 TSD 种类。这些新发现不仅表明卵胎生与 TSD 具有进化兼容性，更为研究脊椎动物繁殖模式和性别决定系统提供了一个新起点。

爬行动物卵胎生和 TSD 进化的原因和适应意义迄今尚不十分清楚。人们较为接受且为不少实验所支持的观点是：①怀卵母体通过体温调节维持有利于提高胚胎发育成功率和后代适合度的体温，驱使卵生种类延长胚胎在母体内的发育时间并最终导致卵胎生[1]；②两性表型及相应的适合度在不同的胚胎发育温度范围内被优化，有利于 TSD 进化[15]。卵生和卵胎生 TSD 蜥蜴母体可分别通过选择产卵巢址和孕期体温调节来影响后代的性别和其他表型[11,13,14]，但存在以下 3 个重要区别。①卵胎生孕蜥体温调节只能调控整窝胚胎的发育热环境，产出的同窝幼体表型较为相似[12]；卵生母体可改变产卵位点使同窝卵在不同的热环境下孵化，故同窝孵出幼体的表型也可能有明显的差异[1]。②与卵生种类不同，卵胎生孕蜥具有通过体温调节选择后代性别以平衡种群性比的潜力[11,13]。③卵胎生蜥蜴胎盘结构简单，孕蜥血液内的类固醇激素［如雌二醇（17 β-estradiol，E2）、睾酮（testosterone，T）和二氢睾酮（dihydrotestosterone，DHT）］可影响胚胎性别分化[16]，这使得卵胎生蜥蜴性别决定比卵生蜥蜴更为复杂。在卵生 TSD 爬行动物中，类固醇激素能在性别决定敏感期影响与 TSD 有关的基因调节，对性别决定起关键作用[9]。例如，外源性（注入卵壳或施敷于卵壳表面）提供孵化卵 E2 能在产雄温度下诱导雌性后代；因 T 在芳香化酶（aromatase）催化下能转化成 E2，外源性提供 T 能在产雄温度下诱导雌性后代；用芳香化酶抑制剂抑制 T 转化为 E2 能在产雌温度下诱导雄性后代；用 DHT 处理孵化在向雌性或雄性后代转变的性别决定枢纽温度附近的卵能增加雄性比例[9,17,18]。从作用机理角度讲，卵胎生蜥蜴孕蜥血液内类固醇激素对胚胎性别分化的影响与外源性提供卵生种类孵化卵此类激素诱导后代性别变异并无差别。然而，人们迄今既不了解卵胎生爬行动物控制其后代性别的生理机制，亦不了解温度通过何种途径影响卵胎生蜥蜴的精巢或卵巢分化，这与缺失探讨孕蜥体温、孕蜥血液内类固醇激素水平、卵黄内固醇激素水平、后代性别彼此之间相互关系的实验工作有直接的关系。例如，源自母体的卵黄内固醇激素水平既有季节变异又有窝间变异，这种变异被推测在 TSD 中具有重要影响[9]。因此，探讨卵胎生和 TSD 是否具有进化兼容性须回答 4 个具体的科学问题：①孕蜥体温与血液和卵黄内 E2、T 和 DHT 水平之间是否存在关联性？②孕期雌体和卵黄内 E2、T 和 DHT 含量变化是否与性别分化有关？③孕蜥能否通过改变体温调定点改变血液或卵黄内类固醇激素水平来选择后代的性别并影响其他后代表型？④卵胎生蜥蜴两性适宜胚胎发育温度范围是否存在偏离而有利于 TSD 进化？

参 考 文 献

[1] Shine R. Life-history evolution in reptiles. Annu Rev Ecol Evol Syst，2005，36：23-46

[2] Sarre SD，Georges A，Quinn A. The ends of a continuum：genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. Bioessays，2004，26：639-645

[3] Shine R，Elphick MJ，Donnellan S. Co-occurrence of multiple，supposedly incompatible modes of sex determination in a lizard population. Ecol Lett，2002，5：486-489

[4] Quinn AE，Georges A，Sarre SD，et al. Temperature sex reversal implies sex gene dosage in a reptile. Science，2007，316：411

[5] Radder RS，Pike DA，Quinn AE，et al. Offspring sex in a lizard depends on egg size. Curr Biol，2009，19：1102-1105

[6] Pokorná M，Kratochvíl L. Phylogeny of sex-determining mechanisms in squamate reptiles：are sex chromosomes an evolutionary trap? Zool J Linn Soc，2009，156：168-183

[7] Mitchell NJ，Kearney MR，Nelson NJ，et al. Predicting the fate of a living fossil：how will global warming affect sex determination and hatching phenology in tuatara? Proc R Soc B，2008，275：2185-2195

[8] Shine R. Adapting to the unpredictable：reproductive biology of vertebrates in Australian wet-dry tropics. Phil Trans R Soc B，2008，363：363-373

[9] Ramsey M，Crews D. Steroid signaling and temperature-dependent sex determination：reviewing the evidence for early action of estrogen during ovarian determination in turtles. Semin. Cell Dev Biol，2009，20：283-292

[10] Uller T. Viviparity as a constraint on sex-ratio evolution. Evolution，2003，57：921-931

[11] Robert KA，Thompson MB. Viviparous lizard selects sex of embryos. Nature，2001，412：698-699

[12] Langkilde T，Shine R. Different optimal offspring sizes for sons versus daughters may favor the evolution of temperature-dependent sex determination in viviparous lizards. Evolution，2005，59：2275-2280

[13] Wapstra E，Uller T. Sinn，D L，et al. Climate effects on offspring sex ratio in a viviparous lizard. J Anim Ecol，2009，78：84-90

[14] Ji X，Lin LH，Luo LG，et al. Gestation temperature affects sexual phenotype，morphology，locomotor performance and growth of neonatal brown forest skink，*Sphenomorphus indicus*. Biol J Linn Soc，2006，88：453-463

[15] Warner DA，Shine R. The adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a reptile. Nature，2008，451：566-568

[16] Painter D，Jennings DH，Moore MC. Placental buffering of maternal steroid hormone effect on fetal and yolk hormone levels：a comparative study of a viviparous lizard，*Sceloporus graciosus*. Gen Comp Endocrinol，2002，127：105-116

[17] Fleming A，Crews D. Estradiol and incubation temperature modulate regulation of steroido-

genic factor 1 in the developing gonad of the red-eared slider turtle. Endocrinology，2001，142：1403-1411

［18］ Endo D，Park MK. Molecular cloning of P450 aromatase from the leopard gecko and its expression in the ovary. J Steroid Biochem Mol Biol，2005，96：131-140

撰稿人：计 翔 丁国骅

南京师范大学

审稿人：周开亚

生命起源与演化生物学，生物多样性与系统生物学，生态学

地球上出现过多少种生物?

How Many Species Have Evolved on Earth?

大约在38亿年前，当时的陆地还是一片荒芜，在汹涌澎湃的海洋中，无机物开始合成有机小分子（氨基酸、核苷酸），闪电轰击和岩浆喷发使得有机小分子合成有机大分子（蛋白质、核酸、类脂、多糖），生物大分子之间的相互作用最终演化出原始生命。随后，原始生命向着不同的方向演化，使地球充满了活力，形成了如今多姿多彩的生物世界。从原始生命的出现到今天种类繁多的生物物种，地球上共出现过多少种生物，这些生物之间存在怎样的进化关系，这是人们一直以来想要弄明白的问题。

250多年前林奈创立了生物的分类系统和命名法，从此可以更加科学地对新物种进行命名。生物世界在人类的眼中变得井然有序[1]，这也极大地促进了分类学的发展和人类对未知生物世界的探索。随着生物分类工作的深入和科学技术的发展，人类从简单的记述、统计生物种类深入到探索生物物种间进化关系的研究，从主要通过外部形态确定生物种类到综合运用分子生物学、生物化学、计算机科学等手段研究生物物种间的进化关系，人类对生物的认识不断深入。

虽然科学家对地球上生物种类的探索从未停止，已经记录描述了约180万种生物，估计仍有0.1亿～1亿种生物尚未描记（表1）。对于“世界上究竟有多少个物种”，迄今仍然没有确切的答案。这一数字难以确定的主要原因之一是有些研究对象的个头太小，比如某些昆虫或细菌等微生物，对它们进行观察和分类难度非常大。另外，传统分类学对于南半球的物种的研究程度远不如北半球地区，并且物种在地球上的分布并不是平均的，它们有自己的“分布热点”。有些物种在外形上常常非常相似，但在基因层面上却具有极大的差异，这也使准确计算物种数量难上加难。

表1　人类对地球生物描记概况

生物类群	已描记的种类	估计尚待描记的种类
有机体	140万～180万	0.1亿～1亿
病毒	5 000	500万
细菌	4 000	40万～300万
真菌	70 000	100万～150万
原生动物	40 000	10万～20万
藻类	40 000	20万～1000万

续表

生物类群	已描记的种类	估计尚待描记的种类
植物	250 000	30 万～50 万
脊椎动物	45 000	5 万
蛔虫	15 000	50 万～100 万
软体动物	70 000	20 万
甲壳动物	40 000	15 万
蜘蛛、螨类	75 000	75 万～100 万
昆虫	950 000	0.08 亿～1 亿

人们可能会认为确定物种的确切数量很关键，其实生物分类学的应用和发展才是最重要的环节。尽管我们还没有统计出地球上全部生物的数量，但是分类学家们都渴望构建出包括所有生物的“生命之树”，从而明确地球上生物间的系统发生关系[2]。构建“生命之树”的想法产生于 1988 年，这个计划的目的就是要记录地球上的所有物种和重要的进化分支，为生命的系统演化提供基本信息，与其他的数据库和分析工具分享信息，从而促进对地球上物种的多样性、进化和相互关系的认识[1]。通过各国科学家的共同努力，“生命之树”的各个分支不断得到补充。为了重建所有现存物种之间的进化关系，1999～2000 年期间，美国国家科学基金先后在耶鲁大学、加州大学（Davis 分校）和得州大学（Austin 分校）组织了 3 次工作会议，随后启动了“组装生命之树”（Assembling the Tree of Life，AToL）计划，涉及的内容包括从真菌、植物、动物到人的各种生物类群[3]。这为“生命之树”计划注入了新的活力。随着科学技术的进步，“生命之树”的构建已经不再仅仅停留在记录物种的形态特征，它已经成为建立在传统的生物学、分子生物学、遗传学、生态学、系统科学、信息科学、计算数学以及计算机科学等基础上的一门交叉科学，多种学科的交叉及先进技术的运用极大地促进了人类对地球生物的认识，从而使“生命之树”所包含的信息量大大增加（图 1）。例如，随着分子生物学的发展，可以通过比较物种间一个或多个基因的差别，甚至寻找整个基因组间的差别来鉴定物种[4]。挑战与机遇同在，我们也必须认识到在构建“生命之树”的过程中也存在着很多困难，多学科的交叉与先进技术的应用要求我们更全面的考虑问题，同时也要求科研人员具有丰富的知识背景，更应该加强各学科之间的合作。地球上生物种类繁多，不同地区生物种类也不尽相同，这就要求各国的科学家加强合作与交流，分享信息，共同进步。我们不但要重视热点生物的研究，还要顾及其他生物种类的研究。同时还应该加强对已灭绝种类的研究，更加重视对濒临灭绝生物种类的研究与保护。总之，人类对地球生物的认识发展到今天已经不仅仅是对生物种类的简单记录，而是更加重视各生物种类的进化关系，它们与环境、人类的关系。

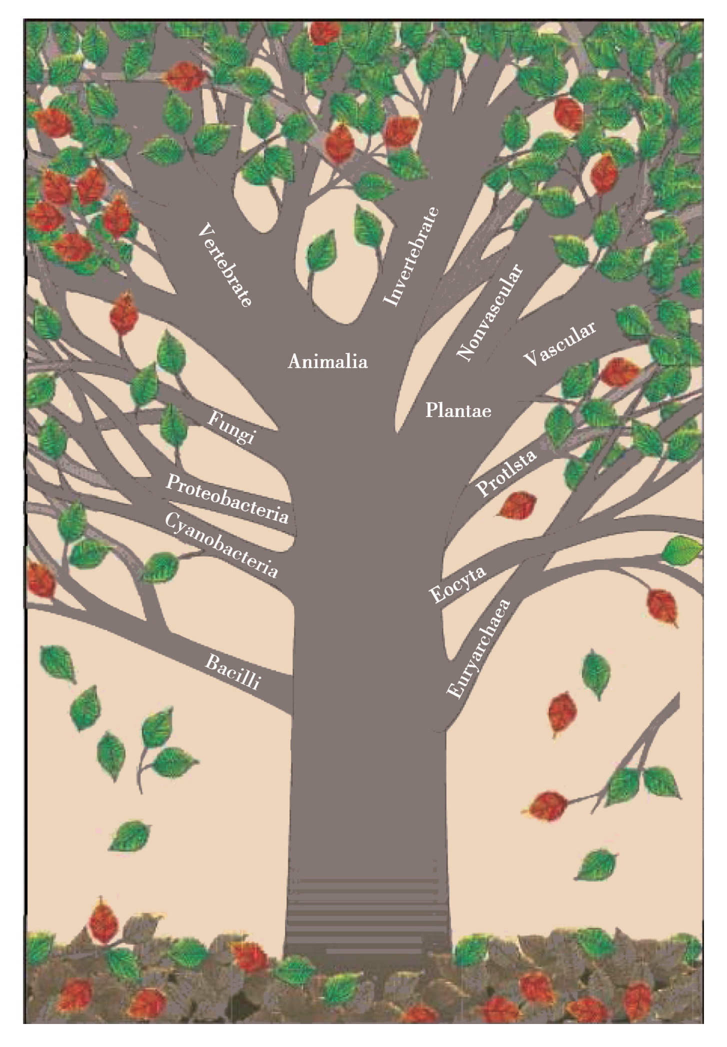


图 1　当前“生命之树”的概况[2]

生物信息更加侧重于脊椎动物和维管束植物（较粗的分支）；了解较少的类群如细菌、真菌和原生生物信息严重不足。绿色叶片代表研究比较清楚的生物种类，棕色落叶层代表已经灭绝的生物种类，正在下落的叶片代表濒临灭绝的生物种类，红色叶片代表已经知道 DNA 条形码（DNA Barcoding，即一个标准化的短基因片段，可据此片段的序列变异鉴定物种）的生物种类

了解我们的地球上究竟有多少个物种在当今具有极为迫切的重要意义，因为环境恶化和全球气候变化已经实实在在地危害到了一些物种的生存。每个物种都是地球上不可或缺的成员，它们也许是生态体系的重要一环，也许具有潜在的医药和科学应用潜力，物种的锐减对人类来说将是一种无法估量的损失。虽然我们距离认识

地球上所有的生物还有很长的路要走，也许这个过程会贯穿人类历史的始终，但是随着我们不断深入地了解地球上与我们共存的生物，“生命之树”必将会枝繁叶茂，成为参天大树。

参 考 文 献

[1] Maddison DR，Schulz KS，Maddison WP. The Tree of Life Web Project. Zootaxa，2007，1668：19-40

[2] Crandall KA，Buhay JE. Evolution. Genomic Databases and the Tree of Life. Science，2004，306（5699）：1144-1145

[3] A new NSF program funds computational approaches for “assembling the Tree of Life”（AToL）. Total AToL program funding is ＄13 million for fiscal year 2004. NSF，Assembling the Tree of Life：Program Solicitation NSF 04-526（www.nsf.gov/pubs/2004/nsf04526/nsf04526.pdf）.

[4] Pennisi E. Building the Tree of Life，Genome by Genome. Science，2008，320（5884）：1716-1717

撰稿人：梁爱萍
中国科学院动物研究所
审稿人：孙江华

特有种的形成原因及其生物地理学意义

The Formation of Endemic Species and
Their Biogeographic Implication

特有种一般指“某一物种因历史、生态或生理等原因，造成其分布仅局限于某一特定的地理区域或大陆，而未在其他地方中出现”的种类。例如，世界上最珍贵的动物之一，拥有动物界“活化石”之称的大熊猫，就是我国珍稀的特有动物。然而，特有种的定义因尺度的不同而不同，如果尺度缩小到省一级，则大熊猫就不能算是特有动物，而是中国的广布种，因为它分布在我国的秦岭南坡、岷山、邛崃山、大小相岭和凉山局部地区，遍布好几个省区。而仅分布在陕西的拥有“东方明珠”之美誉的朱鹮，则是陕西的特有动物。同样，如果尺度放大到洲级、动物界等级别，则原先一些广布的物种则相应地变成该级别的特有种。因此，特有种只是针对世界种而言的，一切不属于世界性分布的属或种，都可以称之为某一分布区内的特有属或特有种。因此，生物地理学研究可以说就是针对特有种的研究！那么，如何确定特有种的界限呢？特有种的分布呈现怎样一种格局，这些格局又是如何形成的？它们具有怎样的生物学意义？

每一种生物有机体都具有一个特定的分布格局，这一现象在两个多世纪前就已经被生物学家所注意。然而，每种生物格局是怎样被确认的？一旦被确认，又应该如何解释这些格局产生的过程？这是生物地理学一直以来所沿袭的两条前进的路线：格局确认和过程识别。按照 Ball[1] 的划分，生物地理学发展到今天，一共经历了 3 个大的历史发展时期：①描述时期：主要对生物区系进行记录和描述。②叙述时期：用隔离分化、扩散的观点来解释、叙述动植物区系。该时期占统治地位的扩散学说认为物种起源于一个中心，个体从起源中心随机的扩散，然后通过自然选择产生变异。然而该学说的假设均是不可检验的，只是凭想象编出来的“故事”。因此被很多学者所批评，认为它是“一门罕见、诡秘、离奇的科学”。③分析时期：受板块构造学说的推动，现代生物地理学认为地球上的生命是与地理演化同步演化的，并根据这一假设来解释生物的分布。

特有种的形成受生物地理历史过程和生态环境的双重影响。其中，特有分布区属于历史生物地理学的一个基本概念，它表示了两个或多个特有种重叠分布的区域，这些特有种具有相同的生物地质历史过程。因此，特有分布区的研究是历史生物地理学的基础研究。生物学家认为特有种是由于地理或一些其他因素造成物种的不同种群隔离分化形成的。这一过程常被称为“物种演化”，而造成物种种群分离

的原因称为“隔离机制”。隔离机制可能是由于行为原因造成的，但主要还是地理原因造成的。一些地质历史事件如火山喷发，或者山脉的突然形成，均可使得一个物种不同种群之间的分布出现隔绝，以至于逐渐演变成为两个或多个物种。这些使得生物群产生不连贯的事件是解释各分类单元之间的系统发育关系与这些生物所处的分布区之间历史关系的首要因素。

随着 20 世纪大陆漂移和板块构造学说、海底扩张等理论的相继出现并逐渐被接受，隔离分化生物地理学得到了很好的发展，兴起了一系列从大范围、大尺度的地质历史事件上探讨物种的现有分布格局及其成因的方法和理论。主要的几种研究方法有泛生物地理学[2]、特有性简约性分析（PAE)[3]、支序生物地理学[4]、更新世森林避难所理论[5]。特别是后者，为很多森林生物的特有格局形成提供了解释，也为这些特有格局的寻找提供了有力的依据，因此一出现就受到广泛的欢迎并得到很多动植物地理学者的支持。除此之外，泛生物地理学以寻求物种分布的一般轨迹，来探讨祖先生物区系的历史格局，为当今格局的形成提供解释。该理论的一些基本技术如轨迹分析（track analysis)[6]等最近常被应用于生物多样性分析和保护策略评估。而特有性简约性分析（PAE）主要依据特有种的分布数据来确定该类群的特有分布中心。该方法由于简单易行，目前应用也颇为广泛。分支生物地理学是生物地理学研究中可操作性最强的一种方法，它的结论的可检验性、可证伪性最高，可预测性最明确，因而当前发展最为成熟，并演化出多种颇具影响力的研究物种分布格局的分析方法，如布鲁克斯简约分析方法（BPA)[7]和分布区及其特有性的支序分析（CADE)[8]等。

然而，这些理论和方法毕竟还是新生的，还有许多问题没有解决，当前仍存有很多争议。例如，特有性简约性分析，它是基于物种的分布信息建立简约性区域分支树，以此获取该类群的特有分化中心。在研究地区所涉及的生物类群系统发育信息缺乏时，这种方法不失为一种可行的补救方法。然而这种方法在处理外群问题时出现了相当的困难。若用一个假定的不含任何类群的地区作为外群，即全 0 特征，这种情况可以有两种解释——地区的原始缺失（历史原因）或者地区的后天缺失(生态因素造成)。而一般只有历史原因才符合其作为“原始地区”的要求。所以，PAE 的分支图所反映的分布格局不能明确是一种历史生物地理学格局还是一种反映各地区生态差异的生态格局，因此也备受争议。

除了一些理论和方法的不足以外，特有种研究还面临着许多不断出现的新问题。例如，仅在一个点发现有分布的特有种在生物地理学研究中一般是不具备意义的，但是如果两个或以上的互为姐妹群的特有种也是这种情况，但是分别分布在不同的地点，那么它们是否具有生物地理学研究的意义呢？还有，确定了一个类群特有种的特有分化中心后，该如何辨别该特有种是原本就分布在该地，还是后来才迁徙过来的？如果证明了它原本就分布在该地的话，那么是什么因素限制了它的扩

散？它是否曾经有过向外扩散？如果是迁徙过来的，那么是什么事件导致了它成为了该类群原始扩散链中仅存的一个环节呢？再者，相同的生态环境下，不同类群的特有种的丰富度的不同，是否预示着它们不同的演化历史？

然而现代生物地理学已经不再是简单的分析，而是各种层次上的综合解释，生物地理学理论发展的重要方向是各种理论和观念的综合、不同方法和手段的分析比较，如分支生物地理学和 PAE 的比较[9]、PAE 和泛生物地理学的轨迹分析的结合[10]，各种不同方法的综合将为探讨特有种的特有格局、重建特有种演化历史、揭示特有种形成原因提供更强有力的支持。而更多类群、更广泛地区的涉入则将为特有种的生物地理学研究提供更为可靠的说服力，还能为特有种的生物地理研究挖掘出更多更有意义的问题。

参 考 文 献

［1］ Ball I. Nature and formulation of biogeographical hypotheses. Syst Zool，1975，24（4）：407-430

［2］ Croizat L. Panbiogeography. Caracas：published by the author，1958

［3］ Rosen DE. A vicariance model of Caribbean biogeography. Syst Zool，1975，24（4）：431-464

［4］ Nelson G，Platnick NI. A vicariance approach to historical biogeography. BioScience，1980，30（5）：339-343

［5］ Haffer J. Speciation in Amazonian forest birds. Science，1969，165（3889）：131-137

［6］ Morrone JJ，MaÂrquez J. Halffter's Mexican Transition Zone，beetle generalized tracks，and geographical homology. J Biogeogr，2001，28（5）：635-650

［7］ Brooks DR. Historical ecology：a new approach to studying the evolution of ecological associations. Ann Mo Bot Gard，1985，72（4）：660-680

［8］ Porzecanski A，Cracraft J. Cladistic analysis of distributions and endemism（CADE）：using raw distributions of birds to unravel the biogeography of the South American aridlands. J Biogeogr，2005，32（2）：261-275

［9］ André MMS，Cavalcanti DR，Silva JMC，et al. Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. J Biogeogr，2007，34（3）：437-446

［10］ Raul CM，Isolda LV，Morrone JJ. Application of parsimony analysis of endemicity to Mexican gymnosperm distributions：grid-cells，biogeographical provinces and track analysis. Biol J Linnean Soc，2007，92（3）：405-417

撰稿人：薛大勇　李　静
中国科学院动物研究所
审稿人：孙江华

生物多样性与生态系统功能的关系

Biodiversity and Ecosystem Functioning

当前地球生物圈发生的最重要的变化之一就是生物多样性的大规模丧失，这促使人们关心并研究生物多样性有什么作用（生物多样性丧失会有什么后果）。生物多样性与生态系统功能的关系成为过去 20 年间生态学中最重要的研究方向之一。人们试图发现和解释生物多样性（尤其是物种数量本身）与生态功能（生产力、养分循环速率、分解速率、对入侵种的抗性等）及其稳定性之间的关系。

这方面的研究至少可以追溯到 19 世纪前叶，与达尔文同时代的一位园艺师研究了草地上物种数量与干草产量的关系，达尔文在《物种起源》中提到这个实验结果：如果在一块土地上仅播种一个草种，同时在另一块相像的土地上播种若干不同属的草种，那么在后一块土地上能够生长更多的植物，收获更大重量的干草[1]。人们在农业实践过程中用间作、套种的方法获得高产，也可以看作是对物种多样性-生态系统功能关系的利用。生态学家也曾经非常关心生物多样性与生态系统稳定性的关系，在 20 世纪 70 年代以前普遍认为更高的多样性与更复杂的营养级关系会增加种群与系统的稳定性[2]。然而 May 的理论研究表明，简单生态系统比复杂系统更可能趋于稳定[3]。

20 世纪 90 年代，由于多样性丧失的后果引起了人们的担忧，关于生物多样性-生态系统关系的问题重新燃起科学家的热情，在短短 10 多年的时间内人们开展了大量的理论研究、观察和实验工作，获得了很多有见地的理论知识，并且这方面的研究处于群落生态学和生态系统生态学的交叉处，这些工作也促进了这两个领域的融合。

人们首先开展了很多实验与野外观察工作来确定物种多样性与生态系统功能（主要研究生产力）之间有没有一个普遍存在的关系，发现在较多的情形下二者之间存在正相关。在这些研究工作中，最著名的早期实验包括“生态箱”实验、Cedar Creek 草地多样性实验和欧洲草地实验（BIODEPTH）。生态箱实验是由以 John Lawton 为首的科学家在伦敦帝国学院开展的[4]，他们建造了 16 个可以精确控制环境的小房间（大小为 2m×2m×2m），这些房间就是著名的“生态箱”（Ecotron）。他们在 14 个生态箱内构建陆生微生态系统，每个微生态系统占地 $1m^2$，所有小房间内的温度、气流、相对湿度、水分、最初土壤密度、生物营养级数目都是相同的，人为控制微生态系统的植物种和动物种总数量在 9、15、31 三个水平上（而且多样性低的系统中所有物种都是在多样性高的系统中出现的，以模拟

自然界中部分物种丢失的情形）。他们发现物种数目更多的系统吸收更多的 CO_2，有更高的初级生产力，但是其他生态过程没有明显表现出与物种丰富度的关系。研究人员给出的解释是多样性更高的系统中植物更有效地占据空间，吸收更多的光照。Cedar Creek 草地多样性实验是由以 David Tilman 为首的科学家在美国明尼苏达州 Cedar Creek 的草地上进行的一系列研究。他们首先基于一个施肥实验分析了物种多样性与群落抗旱性的关系：在施肥不同的样地上存在着具有不同物种多样性的群落，这些群落中物种数量更多的群落在一场旱灾中表现出更强的抵抗性[5]。之后 Tilman 等又在同一地点进行了更大规模的草地实验：在生态条件一致的 147 块样地上建立了含有不同数量的植物种的群落；在初始时刻这些样地之间的差异仅限于植物种类的不同。他们发现物种丰富度更高的群落生产力更高，土壤中矿质资源利用得更充分，淋溶损失更少[6]。欧洲草地实验（BIODEPTH）是由以 John Lawton 为首的多国科学家联合在欧洲的 8 块草地上进行的，这项工作的初衷是检测地域内和地域间两个水平上的物种多样性-生态系统功能关系。他们在每一块草地上用播种的方式构建具有不同植物物种丰富度的群落，前两年的结果表明在绝大多数草地上群落生产力与物种数成正相关，不存在明显的地域-多样性交互效应，含有豆科植物的群落尤其可能会有超产现象[7]。该实验后期的结果与早期结果基本一致[8]。

最近几年人们针对生物多样性的生态系统功能开展了数以百计的实验工作，也开始进行数据的整合分析[9]。但是在若干方面我们还缺乏有足够深度的研究工作。首先，我们需要知道物种共存机制如何影响生物多样性-生态系统功能关系。群落内共存物种的属性以及群落的物种组配都会取决于实际的物种共存机制，因而物种多样性与生态系统功能的关系必然受到物种共存机制的影响。我们需要学会从多样性的维持机制来预测多样性的功能。其次，我们需要知道不同层次的多样性（遗传多样性或物种多样性），或者多样性的不同方面（均匀度或丰富度）与生态系统功能的关系。再次，我们观察到的自然群落往往是长期演替的结果，我们需要理解长期尺度上生物多样性的功能才能对多样性在自然系统的重要性有所认识和预测，这是目前研究的薄弱环节之一。最后，全球变化的多个成分——温度上升、CO_2 浓度上升、氮沉降增加，等等——会影响到生物多样性的维持，也直接影响到生态系统过程（如初级生产力），我们需要了解全球变化与多样性如何交互作用影响生态过程。

参 考 文 献

［1］ 达尔文. 物种起源. 第六版. 周建人，叶笃庄，方宗熙译. 北京：商务印书馆，1995：127

［2］ MacArthur RH. Fluctuations of animal populations，and a measure of community stability. Ecology，

1955，36：533-536

[3] May RM. Stability and Complexity in Model Ecosystems. USA：Princeton University Press，1973

[4] Naeem S，Thompson LJ，Lawler SP，et al. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. Nature，1994，368：734-737

[5] Tilman D，Downing JA. Biodiversity and stability in grasslands. Nature，1994，367：363-365

[6] Tilman D，Wedin D，Knops J. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. Nature，1996，379：718-720

[7] Hector A，Schmid B，Beierkuhnlein C，et al. Plant diversity and productivity experiments in European grasslands. Science，1999，286：1123-1127

[8] Spehn EM，Hector A，Joshi J，et al. Ecosystem effects of biodiversity manipulations in European grasslands. Ecol Mon，2005，75：37-63

[9] Cardinale BJ，Srivastava DS，Duffy JE，et al. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. Nature，2006，443：989-992

撰稿人：张全国　张大勇

北京师范大学

审稿人：孙江华

生物多样性的维持机制

Mechanisms of Biodiversity Maintenance

生物多样性得以维持的原因一直困扰着生态学家，对这个问题的解释也是当前我们保护生物多样性最需要了解的理论知识。多样性的维持涉及若干具体问题：自然界为什么有如此多的物种共存在同一个群落？为什么有些群落物种数目比其他群落多？有没有物种丰富度的模式或梯度？如果有，产生这些模式的原因是什么？对这些问题人们已经提出不少可能的答案，但没有一个能够被人们广泛接受。在全球生物多样性快速丧失的背景下，物种多样性的维持更加成为生态学的重大课题。同时，物种数减少会对生态系统造成什么影响也成为备受关注的焦点。

1959 年，著名生态学家 Hutchinson 提出了一个重要的生态学问题：自然界为什么有如此多的物种共存于同一个群落[1]？这个问题的提出促使生态学家开展了大量的理论与实验研究，提出了许多不同的解释。早期关于生物多样性（尤其是物种多样性）维持机制的理论主要是建立在“竞争排除法则”基础上的生态位理论。竞争排除的思想至少可以追溯到达尔文在 1859 年出版的伟大著作《物种起源》。在该书中，达尔文这样写道，“……在各方面彼此最相像的类型之间，竞争一般也进行得最为激烈。因此，一个改进了的变异的后代一般会导致亲种的绝灭；而且，如果许多新类型是从一个物种发展起来的，那么这个物种的最近亲缘，即同属的物种，最容易绝灭。”在之后的几十年里，许多博物学家都表示过相近的想法，并且认为这是很显然的，不以为奇，Gauss 在 1934 年最初阐述竞争排除法则时也持这种观点[2]。起初人们把这种思想称为“高斯定理”。1960 年 Hardin 重新命名为竞争排除法则[3]。

受高斯的竞争排除法则影响，人们把大量的精力用于寻找自然界中各种精妙的生态位分化机制。生态位分化理论对于理解物种多样性维持机制和物种在不同尺度上的群聚模式具有重要意义。但是在解释浮游生物和热带雨林等物种高丰富度的群落中物种多样性维持及多样性分布格局的时候，“一个物种、一个生态位”的思想受到了挑战。大量不同种类的浮游藻类常常共存于一个简单的水体中，它们之间几乎没有任何明显的生态位分化，这就是著名的“浮游生物悖论”[4]。在热带雨林中数十种甚至几百种植物以大致类同的方式利用光照、水分、二氧化碳及 10 多种必需的矿质养分，其物种共存机理难以在生态位分化的理论框架内得到全面的阐释。

Hutchinson[4] 以环境波动解释“浮游生物悖论”，而后来的数学模型研究表明，随机波动环境对物种多样性维持的影响可以是促进的，也可以是阻碍的或者中性

的，具体情形依赖于生物的生活史特征[5]。最新的模型研究则认为，浮游植物竞争3种以上的资源时，竞争本身是不平衡的，存在振荡和无序波动，这种振荡和无序波动可以促进物种共存[6]。

Tilman[7]提出了一个更为鼓舞人心的理论——资源比率假说，认为只要资源供应条件在群落内有足够的空间变异，多个物种可以在同一群落内实现稳定共存。Tilman假设生境内存在离散的资源斑块，各个斑块内资源动态不受其他斑块资源动态的影响。不同物种具有不同的最佳资源摄取比率，不同斑块内资源供应比率不同，因而不同的物种对共存于同一生境。这个理论很吸引人，因为植物生长虽然只受少数几个资源的限制，而资源比率却可以有无穷多。但除非我们能够鉴定出每个物种适宜的小生境斑块并能确定在群落内它们出现的频度，否则我们无法预知群落多样性是多少以及各个种相对多度如何。

20世纪70年代末一些科学家开始从不同于生态位思想的角度解释多样性的维持。Caswell[8]首先尝试建立了一个中性群落模型，后来又被Hubbell等人进一步发展。2001年，Hubbell出版了专著*The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*[9]，系统阐述了群落中性理论。中性群落模型认为，群落内生态学上足够相似的物种产生竞争排斥需要的时间很长，使得物种分化过程能够补偿竞争排斥所造成的物种多样性丧失。作为解释各个水平上生物多样性维持的一个统一机制，中性理论基于所有个体或基因在竞争能力或适合度上的对等性，强调随机过程的重要性，在解释宏观群落生态学模式（物种相对多度分布以及种数与面积关系等）方面获得了巨大的成功。该理论有两个基本假设：①群落的大小不变，一个个体的随机死亡必然伴随着另一个个体的出生（零和假设）；②群落中各组分种的个体在生态学上都是等价或对称的，即具有相同的出生、死亡、迁移和新物种形成的概率（中性假设）。在零和与中性两个假设条件下，中性理论预测了全新的物种多样性分布模式。在区域尺度上，物种数和相对多度取决于物种分化速率和集合群落大小；在局域尺度上，群落内物种数量和相对多度取决于区域物种多样性、个体迁入速率和局域群落大小。由于中性理论并不要求共存物种间有生态位分化，并且包含了生态位理论所忽视的个体迁移、物种分化、群落大小、扩散限制等因素，强调了群落中随机过程的重要性，因此中性理论也被称为随机理论、抽样理论和扩散限制理论。该理论以其简约性和成功例证正逐步成为群落多样性形成与维持的最重要理论之一。最近也有一些模型与实验证据表明中性共存和生态位分化可以共同促进物种共存。

在这个领域我们还有很多没有解答或者研究不够透彻的问题。最关键的是，人们没有一个统一化的理论框架解释多样性的维持机制。在逻辑上，生态位分化和中性共存都是完全可以促进物种共存的，对此也有实验证据。但是我们还缺乏一个理论框架来整合这两个理论，同时我们不知道这两种促进共存的力量在自然界的相对

重要性。所以，如何在中性理论强调随机性作用的框架内，综合考虑生活史权衡、生态位理论和自然选择过程的关键要素，提出一种能够有效解释生物多样性的新观点已成为今后需要重点研究的一个方向。此外，人们以前大大忽视了长期尺度上生物多样性维持与格局的解释和验证。生物多样性是进化、区域过程、现代环境以及干扰共同作用的结果。我们今后需要考虑这些在长期尺度上发挥作用的过程如何影响多样性的维持，研究重要的物种共存机制在长期尺度上的有效性与重要性并分析进化过程产生的影响，这是今后应该努力的方向。这样的工作可以进一步促进进化生态学、群落生态学的有机结合。最后，除了研究多样性维持的原因，我们还应关注多样性维持的后果。生物多样性对生态系统的功能和服务有着不容忽视的影响。不同的生物多样性维持机制（中性理论、生态位理论）将导致不同的生物多样性-生态系统功能关系。我们需要把物种共存的理论知识用于预测生态系统功能，加强我们可持续利用生态系统服务的能力。

参 考 文 献

[1] Hutchinson GE. Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals? Am Nat，1959，93：145-159

[2] Gause GF. The Struggle for Existence. Baltimore：Williams & Wilkins，1934

[3] Hardin G. The competitive exclusion principle. Science，1960，131：1292-1297

[4] Hutchinson GE. The paradox of the plankton. Am Nat，1961，95：137-145

[5] Chesson P. Environmental variation and the coexistence of species. In：Diamond J，Case TJ eds. Community Ecology. New York：Harper & Row，1986，240-456

[6] Huisman J，Weissing FJ. Biodiversity of plankton by species oscillations and chaos. Nature，1999，402：407-410

[7] Tilman D. Resource Competition and Community Structure. Princeton：Princeton University Press，1982

[8] Caswell H. Community structure：a neutral model analysis. Ecol Monogr，1976，46：327-354

[9] Hubbell SP. The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography. Princeton：Princeton University Press，2001

撰稿人：张全国 张大勇

北京师范大学

审稿人：孙江华

互利共生关系的维持

Maintenance of Mutualistic Symbiosis

当不同物种的个体之间相互产生正面影响的时候我们称这种关系为互利共生（mutualism），也就是种间合作，比如豆科植物与固氮微生物之间的关系。互利共生关系中的生物为对方提供服务，这种服务对于除接受者以外的生物也完全可以是有价值的，为什么没有第三者来获取互利共生关系中某一方提供给另一方的好处呢？这种服务对于提供者而言往往是有代价的，为什么不会在某一方中出现一些个体采用欺骗对策而不忠实为对方服务呢？互利共生关系的维持机制是一个非常有趣但是极具挑战性的难题。

人们很早之前就注意到存在于自然界的各种互利共生关系，比如早在19世纪人们就记录了金合欢-蚂蚁互利关系。此后人们描述和研究了若干类型的互利共生关系，比如以资源换资源（高等植物与菌根真菌、豆科植物与根瘤菌、地衣中的藻类与真菌等）、以资源换服务（以动物为媒介的花粉或种子扩散、蚜虫与蚂蚁等）、以服务换服务（金合欢与蚂蚁、清洁鱼与顾客鱼等）、复杂的农业互利共生关系（人类与作物及家畜、蚂蚁与真菌等），等等。

由于传统上人们对互利共生关系的忽视，很少有人探讨是什么原因保证了这些互利关系不被破坏。20世纪中后期进化生物学家对种内合作行为维持原因的研究有了很大的理论突破[1]。然后，互利共生（种间合作）的维持机制也开始受到关注，人们开始把互利共生理解为相互利用——只不过参与到这一关系的每一方都能获得净收益[2]。同时，人们也在互利共生关系中发现越来越多的关于“欺骗”的证据，同时也发现了一些制裁欺骗的手段。也就是说，我们看到的和谐的互利共生现象背后可能隐藏着很多冲突。人们发现了一些避免欺骗者利用互利共生关系的机制，比如搭档间反馈：当互利关系的双方（生物个体）生活在一起可以发生多次相互影响的时候，其中一方的合作行为导致另一方的收益，这种收益可以迅速反馈为前者提供好处[2]，在垂直传播的共生生物与宿主之间容易发生这种过程（如蚜虫与其消化道内生活的内共生细菌）；再如搭档选择：一个生物个体可以选择对合作者投资，避免或者惩罚欺骗者[3]，如当固氮根瘤菌不向植物提供氮源时植物有可能断绝根瘤菌的氧气供应[4]。

互利共生关系的维持并非总是由互利共生关系双方的行为实现的，有时候需要者双方之外的其他生物来限制欺骗者的入侵。最典型的例证之一就是切叶蚁（*Apterostigma* spp.）与真菌之间关系的维持。远在人类学会种植农作物之前，很

多切叶蚁与真菌已经形成农业型的互利共生关系（五千万年前）；切叶蚁在植物上切下叶子放在挖掘的坑内，培殖真菌，蚁群以种植的真菌为食，真菌从中获得的好处是由切叶蚁“喂养（叶子)”和传播。我们已知的培殖真菌的蚂蚁种类达 230 多种。人们在一百多年前就知道这种关系，并把这个当成互利共生的典型例证。然而事实上切叶蚁与真菌之间的关系要复杂得多。当时还是博士研究生的 Cameron Currie 在关注切叶蚁-真菌系统中的微生物时发现蚂蚁的“种植园”往往除了种植的真菌外还有另一种真菌 *Escovopsis*。经过培养研究，确定这种新发现的真菌取食种植的真菌，对切叶蚁没有任何好处，也就是说它是一个“寄生虫”，而且这三者的关系是紧密的，应该是在切叶蚁开始培殖之后就生活在一起了[5]。所以，这个互利共生关系不像以前想象的那样，事实上是有寄生生物来剥削切叶蚁和真菌的。不过这种寄生虫并没有破坏掉这一经典的互利共生关系——因为有第四个角色存在：生活在切叶蚁身上的一种放射菌（*Pseudonocardia* sp.）产生可以压制“寄生虫” *Escovopsis* 生长的化学物质[6]。这时候切叶蚁与这种细菌形成了一个新的互利共生关系，这个新的互利共生关系保证了原来切叶蚁与真菌之间互利共生关系的维持。这已经说明，研究互利共生关系的维持可能需要研究一个关系网，而不是一对物种。还没有等到人们对这个复杂的关系产生审美疲劳，第五个角色出场了，Currie 团队发现在切叶蚁身体上生活着一种黑酵母，它取食放射菌，威胁到切叶蚁对种植园的保护。而且，在这个关系网中目前发现的这五种生物都是在切叶蚁进行“农业实践”之初就开始生活在一起了[7]。我们目前不知道有哪种力量来限制这种黑酵母的破坏活动，也不知道在这个系统中还有多少种微生物未被发现。

关于互利共生关系维持的研究，最基本的理论出发点已经明晰：互利共生不是高尚无私，是相互利用，不过每一方都能获得净收益[2]，但是具体是什么样的机制来保证这种关系不受破坏，我们还没有一个有效的理论框架来进行概括和解释。所以，我们的首要任务就是理论探讨各种可能的维持机制，关于种内合作维持机制的理论框架[8,9]可能能够提供一些启发。其次，重新审视经典的互利共生例证，探寻这些事例背后隐藏的冲突及其解决途径也将是一个非常有趣的研究方向。

参 考 文 献

［1］ Trivers RL. The evolution of reciprocal altruism. Quarterly Review of Biology，1971，46：35

［2］ Axelrod R，Hamilton WD. The evolution of cooperation. Science，1981，211：1390-1396

［3］ Bull JJ，Rice WR. Distinguishing mechanisms for the evolution of co-operation. Journal of Theoretical Biology，1991，149：63-74

［4］ Kiers ET，Rousseau RA，West SA，et al. Host sanctions and the legume-rhizobium mutualism. Nature，2003，425：78-81

［5］ Currie CR，Wong B，Stuart AE，et al. Ancient Tripartite Coevolution in the Attine Ant-

Microbe Symbiosis. Science，2003，299：386-388
[6] Currie CR，Poulsen M，Mendenhall J，et al. Coevolved Crypts and Exocrine Glands Support Mutualistic Bacteria in Fungus-Growing Ants. Science，2006，311：81-83
[7] Little AEF，Currie CR. Black yeast symbionts compromise the efficiency of antibiotic defenses in fungus-growing ants. Ecology，2008，89：1216-1222
[8] Nowak MA Five rules for the evolution of cooperation. Science，2006，314：1560-1563
[9] West SA，Griffin AS，Gardner A Social semantics：altruism，cooperation，mutualism，strong reciprocity and group selection. Journal of Evolutionary Biology，2007，20：415-432

撰稿人： 张全国　张大勇
北京师范大学
审稿人： 孙江华

合作行为的进化

Evolution of Cooperation

合作，或称利他行为，是在生物界广泛存在的一种现象。自然界中合作的实例很多，例如，动物通过合作形成社群结构；工蜂可以不惜牺牲自己生命来保护蜂巢，甚至为了抚养蜂后的后代放弃繁殖能力；在某些鸟类中，存在一些帮助者，它们协助其他个体喂养幼鸟，如大山雀帮助杜鹃喂养幼鸟。一个显而易见的问题是：如果合作个体总是通过牺牲自己的利益去帮助其他个体，那么在自然选择的作用下合作行为如何被保存下来？

20 世纪 60 年代 Hamilton 提出了亲缘选择理论[1]，将达尔文经典适合度的定义扩展为广义适合度，即个体的繁殖成功率，加上它的行为对遗传亲属的影响（b）与亲属的遗传相关度（r）的乘积。根据亲缘选择学说，个体的所有亲属都或多或少地承载着共同祖先的基因，亲属间的遗传相关度由亲缘系数决定。根据 Hamilton 公式 $c<br$，利他行为的进化条件是，利他者所付出的代价（c）必须小于受惠者所获得的收益与两人之间的遗传相关度的乘积。Hamilton 的亲缘选择理论在很大程度上解释了为什么具有亲缘关系的个体之间趋向于更多的合作。

自然界中的利他现象不仅仅局限于亲属之间。非亲缘个体间的合作行为的进化机制一直令研究者们迷惑不解。“互惠利他”理论是目前解释非亲缘个体间相互合作的最重要的理论。这一理论认为只要“受惠者”将来能够对“利他者”给予相应的回报，那么利他行为就会得以进化[2]。“互惠利他”又分为直接互惠和间接互惠。直接互惠意味着成对个体间的直接相互博弈，例如，我帮助你，你再帮助我。而间接互惠则是指一方对另一方的影响是通过第三方实现的，例如，你帮助我，我再帮助其他人。间接互惠是以所谓的“名声”为基础的。“互惠利他”所要面临的一个致命挑战就是“欺骗”。欺骗是指受惠者获得收益，但是后来没有给予相应的回报。在 Maynard Smith 提出进化博弈理论之后[3]，为了进一步探索非亲缘个体间的利他行为的进化机制，密歇根大学的博弈论学者 Robert Axelrod 基于囚徒困境模型，举行了两场世界范围内的计算机模拟博弈实验。随后他对比赛结果进行了全面分析，并出版了《合作的进化》一书[4]。Axelrod 发现在所有的参赛对策中 TFT（tit-for-tat）对策是最成功的对策。TFT 策略是指：个体第一次选择合作，随后选择互惠合作，即每一轮采取对手上一轮采取的策略。这个策略能够促进合作，而且有利于解决欺骗问题，因为欺骗者会马上遭到惩罚，回报才是互惠利他主义者的真正目的。

但是 TFT 存在一个致命弱点，它不具有纠错功能。Axelrod 组织的竞赛是在没有噪声干扰的情况下进行的，而在现实中，一念之差就可能导致错误的选择。如果两个 TFT 对策者相互博弈，那么一次错选就足以使得双方关于合作与背叛的选择序列发生改变。当这样的博弈无限制地进行下去时，研究者发现，最后结果与随机抛掷硬币来决定选择合作或背叛的结果完全相同。在博弈中的随机错误就会毁掉 TFT。随后研究者又关注了其他策略，如 GTFT（generous tit-for-tat）对策和 WSLS（win-stay，lose-shift）对策。使用 GTFT 对策的个体在对方选择合作后进行合作，同时以一定的概率在对方选择背叛后继续合作。相对于 TFT 对策而言，GTFT 对策显得大度一些。WSLS 对策的规则非常简单。如果上一局获得的收益较高，则继续使用该对策；如果收益较低，则尝试改变对策。如果 WSLS 对策者相互博弈，则在大多数情况下他们都会相互合作。一旦一次偶然发生背叛，则在下一局双方都会选择背叛。在此之后不久双方将再次合作。显然，WSLS 是一种简单的确定性机制，它能够纠正随机噪声的干扰。总之，TFT 对策不能够纠正在博弈过程中的偶然错误，而 GTFT 对策和 WSLS 对策可以做到。此外，WSLS 对策还具有另外一个明显的优势，既当一个 WSLS 对策者与一个永远合作的 ALLC 对策者相互博弈时，前者会发现后者并不进行报复。而当偶然的背叛发生之后，WSLS 对策者将会选择永久的背叛。因此，一个 WSLS 种群不会因为随机漂移的作用而演变为一个 ALLC 种群。建立在 WSLS 对策基础上的合作要比建立在 TFT 基础上的合作更为稳定。尽管 TFT 是重复囚徒困境博弈中最为人们所熟知的对策，但对于存在误差、有突变发生且世代较多的进化过程中，WSLS 是更好的选择[5,6]。

近年来，人们对于合作行为的兴趣与日俱增。哈佛大学 Nowak 等[7]再次以囚徒困境模型为基础，从进化博弈的角度对合作进化的五种机制进行了分析：①当 $b/c>1/r$ 时，亲缘选择会导致合作，其中 r 为贡献者和受益者之间的亲缘系数；②当 $b/c>1/w$ 时，直接互惠会导致合作，其中 w 为在重复囚徒困境博弈中继续进行下一局博弈的概率；③当 $b/c>1/q$ 时，间接互惠将引发合作，其中 q 为已知受益者声誉的概率；④当 $b/c>k$ 时，网络博弈将引发合作，其中 k 为顶点的度数，即每个个体的平均近邻个体数；⑤当 $b/c>1+z+n/m$ 时，群体选择将引发合作，其中 z 为小群体的平均迁入个体数，n 为小群体的大小，m 为小群体的数量。

关于合作的进化条件也已经有诸多探讨。其中之一是利他性惩罚可以促进合作。该理论认为，尽管那些实施惩罚者要付出代价，但人人都能受益于平均结果。Dreber 等[8]的可重复“囚徒困境”博弈的实验发现惩罚会增加合作的频率，但不会增加平均收益水平。成本高昂的惩罚不会为群体提供整体优势。而且最终获得较高收益的成员（“赢家”）倾向于不采用惩罚，而那些收获较低的参与者（“输家”）则经常使用惩罚。这似乎表明利他惩罚的形成并不是为了促进合作，而是为了其他某种目的。另外一个完全相同的实验却表明利他性惩罚并不总是促进合作[9]。总

之，现实的复杂性远远超越了模型以及实验可能描述的情景。因此，合作的进化机制仍亟需进一步探索。

参 考 文 献

[1] Hamilton WD. The evolution of altruistic behavior. American Naturalist，1963，97：354

[2] Trivers，R. The evolution of reciprocal altruism. Q Rev Biol，1971，46：35-57

[3] Smith JM. Evolution and the Theory of Games. Cambridge：Cambridge University Press，1982

[4] Axelrod R，Hamilton WD. The evolution of cooperation. Science，1981，211：1390-1396

[5] Fudenberg，D，Maskin E. Evolution and cooperation in noisy repeated games. Am Econ Rev，1990，80：274-279

[6] Nowak M，Sigmund K. A strategy of win-stay，lose-shift that outperforms tit-for-tat in the Prisoner's Dilemma game. Nature，1993，364：56-58

[7] Nowak MA. Five rules for the evolution of cooperation. Science，2006，314：1560

[8] Dreber A，Rand DG，Fudenberg D，et al. Winners don't punish. Nature，2008，452：348-351

[9] Wu JJ，Zhang BY，Zhou ZX，et al. Costly punishment does not always increase cooperation. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106：17448-17451

撰稿人：王世畅 陶 毅

中国科学院动物研究所

审稿人：张大勇

鸟类的起源与早期演化

The Origin and Early Evolution of Bird

鸟类的起源与早期演化是生物学和古生物学上的一个热点和难点问题[1,2]。这个问题的基本核心主要涉及下述三个方面：①已知原始鸟类究竟与已知爬行动物的哪一支更具有直接的亲缘的关系；②“鸟类”这一类群的概念该如何界定，以使鸟类较清晰地区别于爬行动物而独立存在；③早期鸟类究竟是经历一个缓慢、保守的辐射演化过程，还是一个快速或爆发式的辐射演化过程。

作为生命演化上的热点与难点问题，鸟类的起源与早期演化不仅本身具有诸多难点有待解决；更加困难的是它还与生命演化中的许多其他问题交织在一起，充满了更多的变数并极具挑战性。后者主要包括：①羽毛的起源与早期演化；②鸟类及相关爬行动物的飞行起源与早期演化；③鸟类的“热血（较高的新陈代谢水平）”的起源与早期演化等。这种相互交叉的状况一方面说明鸟类的起源与早期演化的研究结果决定着其他 3 个难题的解决，另一方面也说明前者的解决状况受到后 3 个难题的制约，鸟类起源与早期演化研究的重要性和难度不言自明。至今，有关鸟类的起源与早期演化的争论已经持续了一百多年。随着新材料的不断发现和研究手段的不断改进，对该问题的主流看法也多有摇摆，迄今还没有哪一种学说取得压倒性的多数。因此，鸟类起源与早期演化的研究历史就是一部各种观点在对立中不断深化以及与其他相关学说交织发展的历史。

围绕着鸟类起源这个问题的各种学术争论和探讨，可以上溯到生命科学巨著《物种起源》诞生的 1859 年和第一枚始祖鸟标本发现的 1860 年。早期有关鸟类起源的各种学说多是围绕着少数的几枚始祖鸟标本展开。始祖鸟化石产于约 1.4 亿年前的泻湖沉积中，它全身披满现代鸟类一样的羽毛，显示与现代鸟类具有紧密的亲缘关系；但另一方面始祖鸟还具有爬行动物一样的牙齿、20 枚左右的分离尾椎以及前肢末端具爪等特征。这种“亦鸟亦爬”的特征把鸟类和爬行动物紧密地联系了起来，成为《物种起源》核心思想的最重要证据之一。在约 1.5 亿年前的中生代中早期，古爬行动物已成为陆地上最为繁盛的脊椎动物，分化出小到十几厘米，大至几十米的不同类群。然而鸟类究竟来自爬行动物中的哪一支？存在着多种假说。其中主要的有：Mudge（1879）、Broom（1913）和 Heilman（1926）等人主要基于一种较原始的爬行动物——派克鳄与始祖鸟的形态相似性，提出并完善了鸟类起源的假鳄类（pseudosuchia）学说；后来 Walker（1972，1974，1977）、Martin（1979，1981，1983）、Whetstone（1981）和 Feduccia（1996，1999）等人提出并完善了鸟类和鳄类

具有较近亲缘关系的论点[2]。总之，他们的假说均倾向于认为鸟类是从较原始的爬行动物中分化出来的。与之相对立是，兽脚类（Theropoda）起源学说认为鸟类起源于比较进步的爬行动物——蜥臀类恐龙（Saurischia）中的小型兽脚类恐龙。该学说首先由 Huxley 等（1864，1867）提出，后由 Ostrom（1970）等发扬光大[1,2]。这个学说的最初提出主要是基于始祖鸟与同产于德国的一种小型虚骨龙（Compsognathus）骨骼形态相似性，如前肢较长、骨壁较薄和眼眶较大以及其他一些特征等，这一学说在 20 世纪 70 年代以后逐渐受到更多的支持，然而在兽脚恐龙与鸟类的前、后肢形态与发生方面也还存在一些激烈的争议。自从 20 世纪后期以来，在中国北方发现了大量兽脚类恐龙化石与原始鸟类化石，这一学说更受到青睐。这除了二者在骨骼形态学上的相似性以外，还有羽毛状结构的相似。例如，在这些兽脚类恐龙中的手盗龙类发现了与现生鸟类非常类似的羽毛结构。羽毛作为脊椎动物中最为复杂的皮肤衍生物，是鸟类的一个非常重要的鉴定特征和标志性结构；羽毛或非常类似现生羽毛的结构在恐龙中的存在，是目前鸟类兽脚类起源学说的最强有力和决定性的证据。羽毛类似物在某些恐龙中的出现似乎已经解决了鸟类的起源这个难题，即鸟类起源于兽脚类恐龙。然而，随着新材料的发现，羽毛等皮肤衍生物在鸟类-兽脚类起源说中的正面作用似乎有走向负面的倾向。例如，近几年恐龙新标本的发现证明毛状皮肤衍生物不仅存在于兽脚类恐龙所在的蜥臀类恐龙中，而且还存在于恐龙的另外一大支系——鸟臀类恐龙（Ornithischia）中[3]。鸟臀类和蜥臀类构成恐龙整个类群，它们均是产生于三叠纪的初龙类（Archosauria）爬行动物的后裔。初龙类还包括鳄形爬行动物、翼龙和其他原始爬行动物。如果鸟臀类和蜥臀类恐龙的皮肤衍生物不是分别独立演化的话，那么鸟臀类皮肤衍生物的发现将大大削弱羽毛或羽毛样皮肤衍生物联系鸟类和兽脚恐龙的纽带作用，因为这将说明羽毛等皮肤衍生物既不是鸟类的独有特征，甚至也不是小型兽脚类恐龙的独有特征。在这个意义上，一种同属初龙类的小型爬行动物——长鳞龙（Longisquama）则构成了更强有力的反例。这种只有十多厘米长的动物背面被有两列比身体还长的“鳞片”。有研究表明这些“鳞片”的根部与鸟类羽毛的羽根具有结构上的可比性[4]，这很容易使人联想到这种“鳞片”与羽毛的某种联系。尽管目前还缺乏把它们联系起来的足够证据，但上述两例皮肤衍生物至少说明至少在 2.4 亿年前，一些爬行动物的皮肤衍生物已经出现了向复杂化演化的尝试，或可能出现了向羽毛演化的萌芽。羽毛起源这个难题成了鸟类起源于小型兽脚类恐龙这片晴朗天空中的“乌云”，也是鸟类起源难题与羽毛起源难题交织的一个事例。

鸟类的“热血”起源和飞行起源是另外两个与鸟类起源密切相关并交织在一起的难题。飞行是鸟类区别于其他动物类群的另外一个重要特征，它同时需要飞行主体具有较高的动能产出和新陈代谢水平以维持这种高耗能的运动方式。这两种生命演化难题的解决往往不仅需要直接的化石证据，而且还需要研究方法和手段上的创新与突破；而当前在鸟类和带毛恐龙的飞行能力和新陈代谢水平的判断方面也存在

分歧。由于其他难题的交叉存在，使鸟类起源难题存在诸多变数。另外，在目前已知的所有形态特征、行为方式或生理特征上，如何找到一个界定鸟类与爬行动物相区分，并为多数人所接受的标准，是鸟类起源难题的结症所在。这不仅需要更多的化石材料，而且也需要更多的研究手段及其他学科的交互支持。例如，现代生物学的组织生理学和地球化学以及现代飞行动力学研究手段，已经分别在鸟类的“热血”起源难题和飞行起源难题的研究上发挥着越来越大的作用[5]。

鸟类的早期辐射是一个与鸟类起源密切相关的问题，前者的解决不仅直接受制于后者，而且在化石证据的种类、数量的要求上和这些证据在地质时间尺度的均匀取样上，也均高于后者。从这个意义上说，鸟类的早期辐射这个科学难题是坐落在鸟类起源大山后的另一个更高的科学险峰。总之，鸟类的起源与早期演化是当前生物学和古生物学上的热点和难点问题，它的解决也将带动其他各相关科学难题的解决。中国的古生物化石材料在解决这些问题上起着决定性的作用，因为近 20 年绝大多数与鸟类起源相关的重要化石材料均来自中国[6,7]；中国也有着几十年的近代鸟类学研究和二十多年的古鸟类研究基础。我国大量发育的中生代地层和越来越多与鸟类起源密切相关的化石的出现，极大地预示着在本领域将继续保持较强的学科优势以及在相当长的和可预见的未来内会有着更强的话语权。

参 考 文 献

[1] 郑光美．鸟类学．北京：北京师范大学出版社，1995，120-140

[2] Feduccia A. The Origin and Evolution of Birds. New Haven & London：Yale Univ. Press，1996，45-194

[3] Zheng XT，You HL，Xu X，et al. An early Cretaceous heterodontosaurid dinosaur with filamentous integumentary structures. Nature，2009，458：333-336

[4] Jones TD，Ruben JA，Martin LD，et al. Nonavian feathers in a Late Triassic archosaur. Science，2000，288：2202-2205

[5] Norberg UM. Vertebrate Flight：Mechanics，Physiology，Morphology，Ecology and Evolution. Berlin：Springer Publishing，1990

[6] Chang M，Chen P，Wang YQ，et al. The Jehol Biota. Shanghai：Shanghai Sci Technol Publ，2003

[7] Benton MJ，Zhou ZH，Orr PJ，et al. The remarkable fossils from the Early Cretaceous Jehol Biota of China and how they have changed our knowledge of Mesozoic life. Proceedings of the Geologists' Association，2008，119：209-228

撰稿人：[1] 张福成　[2] 郑光美

1 中国科学院古脊椎动物与古人类研究所

2 北京师范大学

审稿人： 张彦云

鸟类是否具有语言？

Does Bird Has ‘Language’？

鸟类的鸣声和形态特征一样，具有物种的特性。但是与形态特征相比，鸣声更具有个体的特异性，因此鸣声往往被用来鉴别物种，并用于个体的判别。鸟类的鸣声变化很大，有些物种简单，有些物种十分复杂，但是它们都蕴藏了不同的生物学信息。不同个体的鸟类可以通过不同的声音，通过声音的不同变化来表达个体之间的行为通讯，充当了通信讯号的功能，因此它具有语言的功能，是一种特殊的“语言”。

鸟类发声不同于人类，人类用喉头发声，而鸟类依靠鸣管和鸣肌发声。鸟类的鸣声包括鸣唱（song）和鸣叫（call）。鸣叫指鸟类发出的各种各样短促、简单的鸣声，雌雄个体在全年内都会发出鸣叫，如飞行鸣叫、觅食鸣叫、筑巢鸣叫、集群鸣叫、报警鸣叫、悲伤鸣叫等。而鸣唱则一般是由雄鸟在繁殖期内发出的持续时间较长的、相对较复杂的鸣声，具有两大主要功能：宣告领域和吸引配偶[1]。例如，欧洲的苍头燕雀具有 12 种成体的鸣声，其中有 7 种仅用于繁殖季节，其中雄性使用 6 种，雌性使用 1 种，这些鸣声的功能包括宣告领域所有权、吸引配偶、标示个体的特征（质量、年龄、性别、能力），警告潜在危险以及保持社群关系等。有些鸟只在交配前及交配后发出鸣唱，这是婚配仪式不可缺少的一部分。

鸟声具有物种的特异性，不同物种具有不同的鸣声。鸟类可以识别同种鸣声以避免杂交，维持种的独立性。许多实验都证明鸟类对其本种的鸣声应答最强烈。发声是鸟类的一种行为，不仅与遗传、生理、学习因素有关，还受社会行为和栖息生境的影响。这些复杂的相互作用促使了鸟声具有复杂性和多样性。鸟类鸣声形成和发展与人类语言发展几乎相同。雏鸟在发育过程中，向自己的父亲或者邻居学习发声，并根据自己的听觉反馈，不断地进行发声练习。

鸟类发声就像是人类的个人签名一样，具有个体独立性，可进行个体识别，并暗含着社会地位、一夫一妻及家庭关系的性交流。鸣唱的音调、短句结构、句法和组成的详细内容可提供个体资料使鸟类能够认出后代、双亲、配偶及邻居。例如，某些群集海鸟可使用独一无二的发声从群体中找到它们的配偶和子女。个体发声的差异还可使鸟类能够分辨出邻居和陌生鸟并做出应答：领域性的雄性对入侵的陌生者反应强烈，而对邻居们则显得默然。较为有意义的研究是根据声音的稳定性，通过某些特定的声学参数对个体进行“标记”，或者根据有些鸟种雌雄间鸣声差异来鉴定雌雄、识别个体，从而达到监测某些种群、个体的目的。

鸟类鸣唱曲目的复杂性源于鸟类发声器官特定结构的复杂性和神经系统的协调作用，鸣唱的表现形式同时受多种因子影响，并可根据改变的生境进行适应性调节。例如，环境质量（包括营养、污染、竞争压力等）会直接影响鸟类发声核团［如高级发声中枢（high vocal center，HVC)］的发育，进而引起有关个体鸣声的变化[2,3]。从行为学和生态学观点来看，许多鸟类因具有鸣唱学习能力而导致鸣唱得以传承。声音模式由于遗传而建立，因经历而改进，其复杂性的表达受生物因子和非生物因子的影响。从解剖学角度来讲，个体间发声器官结构的差异直接导致了不同鸣唱的产生。鸟类的身体状态、领域质量[4]、遗传[5]和生理状态[6]、年龄和经历[7]等都会对鸣唱曲目的复杂性产生很大影响。反之，鸟类鸣唱的复杂性也可反映其领域质量、遗传和生理状态以及繁殖状况等信息[6]。

鸟类在长期进化过程中，其声信号适应在其各自栖息环境中都趋于达到最有效的传播，也就是使声音在传播过程中衰减损失达到最小。例如，一些在厚密植被生境中生活的种类趋于发出低频、频带较窄的鸣声，而在植被较稀疏环境中生活的种类则趋于发出频率较高、频带较宽的鸣声。鸟鸣特征除与生境有关外，还与鸟的体型大小、喙的大小、不同的行为学意义等密切相关。一些鸟种在背景噪音下会增加鸣声的频率[2]和鸣声响度，以达到有效的通讯。

不同种的鸟具有不同的鸣声，而在同种的不同亚种间、各地理种群间，甚至不同的个体间也会有不同程度的鸣声差异。鸟类鸣声的差异包括宏地理变异和微地理变异。宏地理变异指距离较远的，如相隔上千公里的不同地理种群之间的鸣声变异，这些种群的个体在自然条件下是不可能相遇的。微地理变异指的是距离较近的、具有潜在杂交可能的相邻种群之间的鸣声变异，假如各种群内的个体各自共享部分或全部的鸣唱特征，而种群间互不相同且存在明显的边界，这样就构成“方言(dialect)”[8]。方言既体现鸣声的一致性，也体现个体性。方言可在一定程度上阻碍种群的扩散和基因漂移。长时间的地理隔离可导致地方类群（或亚种）的产生和分化，并对新种的形成产生一定影响。鸣声也可作为系统分类的一个参考标准，尤其是对近缘种、姐妹种的鉴定研究。鸟声在鸟类系统学研究中的重要性已得到广泛的重视。有的学者以鸟类鸣声的结构特点重建鸟类的系统发育[9]，其鸣声的分化也是一些同域分布成种的关键因素之一[10]。

目前国内外学者们普遍公认性选择是雄鸟鸣唱进化的动力。已有研究证明许多鸟种的雌性都愿意与鸣唱曲目大的雄鸟交配，这是由于鸣唱曲目大的雄鸟体内激素水平高、免疫力强、身体素质好，可以与更多的雌鸟交配，后代的成活率也较高。

20 世纪末，鸟声研究几乎渗透到了鸟类学研究中的各个方面，如鸣声学习行为、通讯行为、鸣唱的意义、效鸣行为、个体识别以及方言等。随着科学技术的迅猛发展，各种新型的声音记录和声谱分析等设备不断涌现，使研究者能更精准、更细致地研究鸟类鸣声，极大地推动人们对鸟类“语言”奥秘的解析。根据鸟声的特

征，可以研发和改进现代化的通讯设备，并可用于招引益鸟、防治鸟害等应用研究，在仿生学、临床医学等方面发挥潜能，为人类服务。

参 考 文 献

[1] Kroodsma DE，Byers BE. The function(s) of bird song. Amer Zool，1991，31：318-328

[2] Slabbekoorn H，Peet M. Birds sing at a higher pitch in urban noise. Nature，2003，424：267

[3] Buchanan KL，Leitner S，Spencer KA. et al. Developmental stress selectively affects the song control nucleus HVC in the zebra finch. Proc Roy Soc B：Bio Sci，2004，271：1471-2954

[4] Hoi-Leiner M，Nechtelberger H，Hoi H. Song rate as a signal for nest site quality in blackcaps（*Sylvia atricapilla*）. Behav Ecol Sociobiol，1995，137：399-405

[5] Hamilton WD，Zuk M. Heritable true fitness and bright birds：a role for parasites. Science，1982，218：384-387

[6] 王爱真，雷富民，贾志云．雌性选择与雄鸟鸣唱的进化．动物学研究，2003，24（4）：305-310

[7] Searcy WA，Yasukawa K. Song and female choice. In：Kroodsma DE，Miller. Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds. New York：Cornell University Press，1996，454-473

[8] Mundinger PC. Microgeographic and macrogeographic variation in acquired vocalizations of birds. In：Kroodsma DE，Miller E H. Acoustic Communication in Birds. vol 2. New York：Academic Press，1982，147-208

[9] Payne RB. Bird songs and avian systematic. Curr Ornithol，1986，3：87-126

[10] Kingston T，Rossiter SJ. Harmonic-hopping in Wallacea's bats. Nature，2004，429：654-657

撰稿人：雷富民　邢晓莹

中国科学院动物研究所

审稿人：郑光美　张彦云

鸟类的迁徙和定向之谜

Mysteries of Birds Migration and Orientation

鸟类的迁徙是一种动态的、类型多样的行为，伴随季节更替和栖息地质量的变化，鸟类在不同地点之间来回迁移。鸟类迁徙的原因尚不明确，迁徙的距离有长有短，定向的机制有的简单，有的复杂。本文将从鸟类迁徙的常识出发，继而介绍鸟类迁徙定向机制之谜。

迁徙的鸟也叫候鸟，是指在春秋两季，沿一定路线在繁殖区和越冬区之间进行往返迁徙的鸟类，如天鹅（*Cygnus cynus*）、家燕（*Hirundo rustica*）、燕雀（*Fringilla montifringilla*）等。另外，终年栖息于同一地区，不随季节变化迁徙的鸟类称为留鸟，如麻雀（*Passer montanus*）、喜鹊（*Pica pica*）等[1]。鸟类迁徙的距离长短不一，长距离的迁徙达几千公里甚至上万公里，例如，北极燕鸥（*Sterna paradisaea*）在南北极之间的迁徙距离可达 18 000km；而短距离的迁徙只有几百公里。迁徙时鸟类的飞行高度一般不超过 1000m，小型鸣禽一般不超过 300m，有些大型鸟类的飞行高度可达 3000m 以上，而天鹅甚至能够飞越珠穆朗玛峰，飞行高度达到近 9000m。

关于鸟类迁徙行为的起源与鸟类的起源问题密切相关，目前有三种不同的观点：①鸟类起源于北方高纬度地区，第四纪冰川入侵，促使鸟类南迁，夏季冰川消融，鸟类返回原来的栖息地，随着冰川的反复入侵和退却，鸟类定期往返于繁殖地和越冬地之间，逐渐形成了迁徙的习性。②鸟类起源于南方的热带森林，种群的大量繁殖造成了对食物需求的增加，使得某些鸟类在夏季向冰川退缩的方向扩散，冰川来临时再飞回南方越冬，久而久之，形成了定期的迁徙行为。③鸟类起源于南方，由于大陆板块的漂移，许多鸟类被带到了北方，于是由它们返回南方故乡的种种尝试便形成了鸟类迁徙的习性。相比之下，第二种假说更符合现代生态学思想，而第三种假说最没有说服力，因为现代地质学研究表明，大陆板块的移动早在鸟类出现之前就已完成。对现有鸟类新的迁徙行为的研究或许可以帮助解开这个谜题[2]。

鸟类迁徙的方向取决于越冬地和繁殖地的相对位置，这主要与气候变化和食物变化有关，因此，大多数鸟是南北迁徙的。气候越严酷，迁徙鸟的比例越大，即纬度越高，迁徙鸟的比例越大。鸟类迁徙的路线不仅在各个年份不同，而且在个体之间也有差异。受到人类对鸟类栖息环境的破坏和全球变暖的影响，一些鸟类改变了迁徙的路线和时间[3]。英国科学家分析了气候变化对欧洲大陆鹟属

(*Sylvia*) 鸟类迁徙的潜在作用，说明了其繁殖区会出现持续向北移动的趋势，而且整个迁徙距离会加长[4]。有些鸟类迁徙的路线为环形，例如，美国的金斑鸻(*Pluvialis fulva*) 春天经中美洲、墨西哥，再由密西西比河谷穿过加拿大草原到加拿大北部繁殖，秋季先往东飞到纽芬兰岛一带，再飞越大西洋到南美洲越冬。有些鸟类迁徙路线是直线，它们的迁徙路线基本上是越冬地和繁殖地之间的一条直线；而有些鸟类的迁徙路线则是曲线。过去认为弯曲的路线没有什么生物学意义，是一种历史的产物，但进一步研究发现这其中有一个利弊的权衡，因为陆地鸟类在迁徙中会遭遇一些生态障碍（如高山、宽阔的水域等)，在飞越这样的区域前鸟类必须积累大量的能量，并且在飞越过程中还有可能遭遇恶劣的天气，如果能量不足很有可能面临饿死的危险；而绕道飞行虽然路线更长，但是中间经过停歇，补充能量，相比之下可能耗能较少[5]。通过分析白鹳 (*Ciconia ciconia*) 的迁徙路线就发现其迁徙时间、速度和路径与繁殖地、越冬地和停歇地的栖息地状况密切相关[6]。

科学家使用环志、圆月观察、云高计、雷达、无线电遥测、卫星追踪、室内实验等技术和方法研究了鸟类的迁徙行为，包括迁徙路线、迁徙的定向机制等问题。其中迁徙中的定向问题一直没有一种比较完善的解释。关于鸟类迁徙定向的研究主要有 5 种假说：①地标导航，利用地理标志物进行导航被很多种动物使用，并被认为是一种简单的定向方法。地标导航对鸟类很可能只是一种辅助方法，与其他方法结合使用。如家鸽和很多夜间迁徙的种类，地标起不到多少作用。②太阳导航，太阳导航被认为是一种基本的导航方式，在天气晴朗的情况下，即使有明显的地理标志物，鸟类也会使用太阳导航，有研究表明，家鸽在有明显的地理标记物时，也会优先使用太阳导航回巢，这可能是因为太阳导航比较稳定而且简单。③偏振光导航，很多脊椎动物和无脊椎动物都能觉察到偏振光，研究者认为用偏振光导航是在没有太阳的情况下使用的一种补偿导航方式，有研究表明，候鸟在有日光的情况下，优先使用落日的方向导航。④恒星导航，尽管很多动物在夜间活动，但仅发现鸟类能够利用恒星导航。人们认为鸟类利用恒星导航并不是天生的，跟太阳导航一样，也是在后天学习中获得的。⑤地球磁场导航，最早提出有机体可能利用地磁导航的科学家是米登多夫（Middendorff)，当时科学家并不接受这种观点。现在我们知道从原核生物到脊椎动物，有很多动物都利用这一方式导航，表明它是一种原始、进化很早的导航方法，其进化可能在生物大爆发之前的寒武纪。此外，还有风导航、嗅导航，听觉导航等[7]。

目前，科学家普遍认同鸟类迁徙定向是基于许多复杂机制的，包括各种来源于环境的直接信息，如太阳、地球磁场、恒星、偏振光和风等。关于每一种机制的相对重要性和它们之间的关系我们知道的非常少。这可能是因为：①不同鸟类可能使用不同的迁徙定向机制，至少在不同机制间侧重不同。②不同定向机制间的相互关

系复杂，而且不同鸟种、同一鸟种的不同种群、不同个体，甚至同一个体随年龄、经验变化都可能会改变其定向机制。

许多鸟类迁徙定向机制的规律是科学家通过室内试验研究发现的，但由于试验候鸟无法接受到在自然条件下能够得到的许多外界信息，而试验鸟的紧张亦会影响其行为。因而室内试验应与野生候鸟的研究密切结合，这样才能为了解候鸟如何整合利用自然界的各种信息完成迁徙定向提供研究基础。

近年来，有许多跨学科的研究方法应用于鸟类迁徙的研究，如稳定同位素测定技术就是利用稳定同位素在自然界分布的规律性，通过收集测定候鸟代谢速率不同的组织的同位素含量，获得鸟类过去短时间到长时间内的食物信息，并通过与同位素地理信息进行比对，得到鸟类一年迁徙周期内不同阶段的食物组成、分布和栖息地利用的信息[8]。而磁成像、超声波、电磁感应圈、风洞等感应生物学技术结合条件精确控制的行为学试验，可以帮助我们了解鸟类是如何感应外界变化的，进而理解其迁徙定向的机制。这种多学科的交叉将是未来研究的方向，鸟类迁徙过程中需要解答的问题包括很多方面，生物学家需要结合其他学科的知识，深刻理解鸟类迁徙的各种机制。

鸟类迁徙是生活史研究中最令人着迷的课题之一，目前我们对鸟类迁徙的了解还非常欠缺，已研究的候鸟种类仅占所有候鸟的一小部分，还有大量的研究课题等待着科学家去解决[9]，希望有越来越多的人加入到这个队伍中。

参 考 文 献

［1］ 郑光美．鸟类学．北京：北京师范大学出版社，1995. 407-428

［2］ Berthold P. Bird Migration：A General Survey. 2nd ed. Oxford：Oxford University Press，2001. 4-10

［3］ Louchart A. Emergence of long distance bird migrations：a new model integrating global climate changes. Naturwissenschaften，2008，95：1109-1119

［4］ Doswald N，Willis SG，Collingham YC，et al. Potential impacts of climatic change on the breeding and non-breeding ranges and migration distance of European Sylvia warblers. J Biogeogr，2009，36，1194-1208

［5］ Newton I. Can conditions experienced during migration limit the population levels of birds? J Ornithol，2006，147：146-166

［6］ Kölzsch A，Blasius B. Theoretical approaches to bird migration The white stork as a case study. Eur Phys J-Spec Top，2008，157：191-208

［7］ Terril SB. Evolutionary aspects of orientation and migration in birds. Experientia，1990，46：395-404

［8］ Hobson KA. Stable isotopes and the determination of avian migratory connectivity and seasonal interactions. Auk，2005，122：1037-1048

［9］ Bairlein F，Coppack T. Migration in the life-history of birds. J Ornithol，2006，147：121

撰稿人：孙悦华

中国科学院动物研究所

审稿人：郑光美　张彦云

甲螨在土壤生态系统环境中的作用

The Role of Oribatid Mites in the Soil Ecosystem

土壤是生物、气候与地质相互作用的产物，是地球生态系统主要的基质。土壤中生活着多种生物，它们对土壤的形成、发育、物理结构、化学性质、有机质分解及其持水、保温等性能起着重要作用。土壤动物是生态系统主要的分解者，也是土壤生物中最早受到注意的研究对象，在19世纪中叶达尔文便对蚯蚓生物学开展了研究。经过100多年的发展，土壤动物学已经成为生命科学一个重要的分支学科，国内外学者对不同地区的土壤动物主要类群，如蚯蚓、白蚁、线虫、跳虫、螨类等的物种多样性、生物学习性等领域开展了大量的研究工作，并逐渐转向研究不同动物类群在土壤生态系统的物质循环、能量转化以及土壤动物与土壤形成中的作用等方面，特别是对碳、氮、磷、钾和钙等无机矿物质的循环和土壤动物活动的关系等作了大量工作[1]。

节肢动物门蜱螨亚纲甲螨目（Oribatida）是一类体型微小的动物，体长一般为0.2～1.0mm，因大多数种类体壁强烈骨化，形似甲虫而得名。甲螨为世界性分布，在南、北极地区，甚至海拔5000m以上的地区都有分布。截至2001年，全世界已报道甲螨191科1300余属10 000余种，但推测全球实际种数应在50 000～100 000种[2]。

甲螨是自由生活的螨类，主要生活于土壤中，尤以土壤表面约5cm的范围内最多。甲螨的数量和种类是土壤节肢动物中最多的，在含有大量有机质的土壤中每平方米可多达100余种，数十万头。土壤甲螨也是目前已知最早的陆生动物之一，在泥盆纪的地层（距今约3.8亿年）中发现有甲螨的化石[3,4]。

甲螨由于种类多、种群数量巨大，以及主要以有机质和微生物为食，它们对土壤生态系统的作用很早就引起了人们的重视，被看作是重要的分解者之一。目前认为甲螨通过取食（或体表携带）微生物（真菌、细菌、藻类）和植物有机质，可以使这些微生物在土壤中扩大分布，有机质的表面积增大，有机质与微生物充分混合，从而加快有机质的分解，有助于土壤的形成和肥力的增加[4]。

真菌与甲螨之间的关系虽然已有不少研究，但仍然存在很多未彻底解决的问题。例如，一些学者通过对甲螨的饲养，认为甲螨的食性可以分为大植食性[macrophytophage，取食高等植物死亡腐烂组织，也被称为腐食性（saprophages）]、微植食性（microphytophage，取食活的真菌等微生物）、泛植食性（panphytophage，对植物和真菌的取食没有偏爱）三种主要类型，以及肉食性（zooph-

age，取食活体动物材料）、尸食性（necrophage，取食死亡的动物）和粪食性（coprophage，取食动物粪便）三种不常见类型[5]。但有的学者认为只有两类，即取食腐殖质的种类（microbi-detritivorous specie）和取食生物体表真菌的种类（fungivorous specie)[6]。也有研究表明，甲螨中捕食其他小型动物和取食死亡动物的种类可能也不少，也就意味着甲螨在土壤生态系统中跨越着多个营养级（trophic level)[7]。研究发现，在甲螨消化道内存在有各种消化共生物（digestive symbiont)，那么甲螨在分解食物时的消化酶是由它自身产生的还是由消化共生物提供的？这也是值得探讨的问题[8]。随着对小型节肢动物食性分析研究手段和方法的不断提高，对甲螨食性通过非直接观察的方法可以得到更加准确的结论。

甲螨对真菌的取食有一定的选择性，不同有机质环境中的甲螨种类不同，它们取食的真菌种类也存在差异，但目前的研究尚无定论[9]。对于不同植物的腐殖质，其中生存甲螨群落组成也有差异，引起这种差异的原因是甲螨对不同植物腐殖质存在偏好还是不同植物腐殖质中存在的微生物种类不同，这些问题有待进行深入探讨。

近年来，随着全球气候变化，人们对土壤甲螨在这样的环境变化下表现的应对现象开展了初步研究，发现随着植物营养成分的变化，凋落物形成的腐殖质中甲螨群落也发生了变化，而且在物种分布范围方面出现了一些趋势。这些都有待进一步开展深入的研究和探讨。

另外，目前甲螨亚目还有大量的新物种有待发现，这也是影响进一步探讨甲螨在土壤生态系统中作用的重要因素。同时也提出一个问题，为什么土壤中能有如此多种类的甲螨存在，而且它们的生态功能又都非常近似，它们是如何共存的?

甲螨具有生活史较长、繁殖力较低、个体发育较慢、扩散能力较弱等特点，是一类良好的土壤环境指示生物[10]。在这方面仍有许多工作有待开展。

对这些难题的研究，可以揭示似乎微不足道的甲螨在生态系统物质循环中的具体作用，并可为土壤治理、环境监测、垃圾处理等提供新的依据和途径。

参考文献

[1] Copley J. Ecology goes underground. Nature，2000，406：452-454

[2] Schatz H. The Oribatida literature and the described oribatid species（Acari）（1758-2001）-an analysis. Abh Ber，2002，74（1）：37-45

[3] Shear WA，Bonamo PM，Grieson JD，et al. Early land animals on North America：evidence from Devonian Age arthropods from Gilboa，New York. Science，1984，224：492-494

[4] Labandeira CC，Phillips TL，Norton RA. Oribatid mites and the decomposition of plant tissues in paleozeoic coal-swamp forests. Palaios，1997，12：319-353

[5] Luxton M. Studies on the oribatid mites of a Danish beech wood soil. I. Nutritional biology

Pedobiologia，1972，12：434-463
[6] Maraun M，Salamon JA，Schneider K，et al. Oribatid mite and collembolan diversity，density and community structure in a moder beech forest（*Fagus sylvatica*）：effects of mechanical perturbations. Soil Biol Biochem，2003，35：1387-1394
[7] Schneider KS，Migge RA，Norton S. Trophic niche differentiation in soil microarthropods（Oribatida，Acari）：evidence from stable isotope ratios（15N/14N）. Soil Biol Biochem，2004，36：1769-1774
[8] Shimano S，Matsuo T. Morphological studies on the digestive tract of Scheloribates azumaensis（Acari：Oribatida）. J Acarol Soc Jpn，2002，11（1）：37-40
[9] Schneider K，Renker C，Maraun M. Oribatid mite（Acari，Oribatida）feeding on ectomycorrhizal fungi. Mycorrhiza，2005，16：67-72
[10] Gulvik ME. Mites（Acari）as indicators of soil biodiveristy and land use monitoring：a review. Pol J Ecol，2007，55（3）：415-440

撰稿人：陈　军
中国科学院动物研究所
审稿人：孙江华

昆虫的变态发育

Insect Metamorphosis

昆虫是这个星球陆地上最庞大和最多样化的一群生物。由于昆虫在变态发育上的不同演化，使得昆虫千姿百态、绚丽多彩、分布广泛。所谓变态是指昆虫在其生命周期的各个不同发育时期表现出完全不同的形态、结构、功能和生活习性。按变态的不同程度，昆虫可分为完全变态昆虫和不完全变态昆虫。完全变态是指虫体自卵孵化后，经历了幼虫、蛹和成虫等过程，期间形态结构、生活方式和生活环境完全不同。绝大多数昆虫属于这种变态类型的昆虫，如常见的蝴蝶、飞蛾、蜜蜂、家蚕、苍蝇等。不完全变态是指虫体自卵孵化后，不经历幼虫、蛹和成虫等过程，仅经历若虫阶段发育到成虫，而若虫在形态与结构上与成虫十分相似。蝗虫、蜻蜓、螳螂、蟑螂、浮游等昆虫都属于不完全变态昆虫。不完全变态昆虫依若虫与成虫的形态特征和生活习性等差异程度的不同，还可以分为渐变态、半变态和过渐变态等类型。

千姿百态的昆虫是如何形成的呢？达尔文在《物种起源》中指出，为了逃避天敌和恶劣天气，为了寻找食物和适应环境，在“自然选择”和“适者生存”的法则下生物物种在形态、结构和功能分化的同时，也形成了新的物种。昆虫变态发育是昆虫长期与自然界其他生物和环境协同演化的结果，是其遗传物质与环境相互作用的结果。但是，在细胞和分子水平上是什么控制着昆虫的变态发育呢？至今为止，昆虫变态发育的细胞和分子机理仍然是一个重大的科学问题，对此研究有多方面的重要意义。首先，生态环境是如何在细胞和分子水平上通过影响昆虫遗传物质的变异和表达来影响昆虫的变态发育的？或者说昆虫如何通过遗传物质的改变和活动实现不同的变态发育以适应环境，从而演化出丰富的多样性？其次，器官是如何发生的？高等动物在胚胎发育期，各个器官已经形成，并随着个体发育成熟，再没有新的器官形成。而昆虫则不同，全变态昆虫的成虫器官如翅膀只有在成虫时才出现；幼虫有多条腿，成虫只有几条腿；成虫的进食与消化系统、神经系统与幼虫也完全不同。那么，新的组织器官是如何形成的？旧的组织器官是如何消亡的？这些过程涉及细胞的分裂、分化及程序性死亡。另外，昆虫变态发育与人类生活与生存息息相关。一方面，昆虫与人类争夺资源，包括植物、粮食及环境。昆虫也是许多重要疾病病原的携带者和传播者；另一方面，昆虫作为自然生态系统的一员，对生态系统的平衡起着重要的作用，如为植物传粉，是昆虫天敌的食物链成员，等等。

目前知道，昆虫的变态受到多种昆虫激素的控制，其中有三大最主要的昆虫激

素：促前胸腺激素、蜕皮激素和保幼激素。促前胸腺激素启动蜕皮与变态的发生；蜕皮激素启动和调控着昆虫的蜕皮与变态发育过程；而保幼激素调控着昆虫发育的方向[1]。促前胸腺激素是小分子的昆虫神经肽，它在昆虫脑神经分泌细胞中合成后分泌到前胸腺，刺激蜕皮激素的合成和分泌。蜕皮激素是一种甾醇类化合物，在昆虫前胸腺中合成后分泌到昆虫血液中，然后被运输到各个靶组织中，与蜕皮激素受体 EcR 和 USP 二聚体结合后，激活与变态紧密相关的一系列转录因子的表达，如 E75A、E75B、E74A、E74B、HR3、HR4、FTZ-F1 和 BR-C 等。这些转录因子的表达又进一步启动了大量与蜕皮直接相关的基因的表达。通过这个基因级联表达过程，最终导致激素信号转变成生理和结构的变化，导致蜕皮变态发育。促前胸腺激素和蜕皮激素受体已先后于 1990 年[2]和 1991 年[3]被克隆。自此，许多与蜕皮变态发育有关的生理机理得到了阐明，并发展出大量作用于蜕皮激素及其受体的化学和生物农药。保幼激素是一种小分子的倍半萜类化合物，在昆虫脑部咽侧体中合成后，被运输到靶组织中发挥作用。当昆虫从一个龄期幼虫向下一个龄期幼虫发育时，往往有高水平的保幼激素分泌，使昆虫不会发育成蛹或成虫（蛾）。但在幼虫向蛹期发育时，体内保幼激素水平下降，并在高水平的蜕皮激素的作用下，使幼虫向蛹期变态发育[4]。尽管保幼激素的存在和作用已发现了几十年，但到目前为止，保幼激素受体的分离鉴定仍然没有突破。尽管许多蛋白都被认为是昆虫保幼激素的受体，但都还没有得到明确、肯定和公认的实验证明。关于保幼激素受体，现在有三种主要的理论：一是在细胞膜、细胞质或细胞核中都有可能存在与保幼激素结合的受体蛋白，这些蛋白与保幼激素专一结合后，引起靶细胞专一的反应，如基因表达。二是蜕皮激素异型二聚体受体中的 USP 蛋白也可能是保幼激素受体。当保幼激素与 USP 结合后，昆虫对保幼激素响应，竞争性地抑制了蜕皮激素的作用；而当蜕皮激素与 USP 结合后，昆虫对蜕皮激素响应，竞争性地抑制了保幼激素的作用[5]。这个理论可以解释为什么蜕皮激素与保幼激素在许多生理反应中呈现出相互拮抗的作用。但这个理论的主要问题是实验所证实的 USP 蛋白与保幼激素结合亲和力远远低于作为一个激素受体在生理条件下应具备的结合能力。三是昆虫体内可能并不存在特异的保幼激素受体蛋白。保幼激素可能仅仅作为一种“缓冲剂”通过调节细胞的状态或对蜕皮激素响应的敏感性而发挥作用。无论哪一种理论，目前尚无定论。保幼激素受体的研究已经历了半个多世纪，但仍未发现和证实。

那么，激素水平发生变化后，是如何调控了下游的生理生化变化和细胞活动从而导致变态时旧器官（如幼虫器官）消亡和新器官（如成虫器官）生成呢？对于旧器官的消亡，目前认为主要通过细胞程序性死亡如细胞凋亡和细胞自噬作用得以实现。细胞程序性死亡是生物发育过程中细胞按照预定的程序自主解体死亡的现象，是由发育程序自主控制或外界刺激信号诱导而发生的。当昆虫发生变态时，蜕皮激素水平上升后触发细胞程序性死亡相关的基因表达，从而导致相应的幼虫器官如神

经、肠道、丝腺、脂肪体等死亡和解体[6]。对于新器官的形成，目前认为，一些新的成虫器官原基（如翅膀原基）在幼虫期其实已存在，但其发育被抑制住，幼虫阶段并不继续进一步生长与分化。当受到蜕皮激素等发育信号的刺激，抑制作用即被解除，新器官的进一步分化与生长发育得以继续进行，最终形成新的器官（如成虫的翅膀）[1]。

问题是在不同变态类型的昆虫中，这些调控是如何实现的？促前胸腺激素、蜕皮激素和保幼激素在不同变态类型的昆虫中已有发现，但不同昆虫存在不同形式和不同活性的昆虫激素。另外，蜕皮激素受体基因和蛋白在不同昆虫中的结构、表达、调控及活性也存在差异。蜕皮激素受体以及许多与蜕皮变态相关的转录因子都有不同的异型蛋白，例如，USP-A 和 USP-B、EcR-A 和 EcR-B、HR3 和 HR4、E75A 和 E75B、BR-C 和 Z1-Z4 等，这些异型蛋白往往具有完全不同的调节作用。例如，当蜕皮激素与 EcR-B/USP-A 结合，可诱导 HR3 的表达；但当蜕皮激素与 EcR-A/USP-B 结合，可通过 E75A 抑制 HR3 的表达。另外，在受蜕皮激素调节的转录因子基因的调节区往往含有多个与受体复合物结合的激素响应元件，当这些响应元件与不同的激素受体结合后，调控不同的基因表达反应。也许这些差异使得昆虫对激素的反应性不同，从而产生不同的生理和生化响应，最终呈现不同的变态效应和结果。这方面的研究目前仍存在大量未知的科学问题[2]。

目前，多种变态类型昆虫的全基因组序列测定已经完成，如果蝇、蚊子、家蚕、蜜蜂、甲虫、蚜虫、蟑螂、虱、寄生蜂等。更多完全变态和不完全变态昆虫全基因组结构的确定以及相关的比较基因组学和功能基因组学以及蛋白组学的研究，对于进一步阐明昆虫变态发育的遗传控制和演化机理将有极大的帮助。也许将来在阐明昆虫变态发育的遗传和分子机理后，我们可以预测昆虫变态发育的方向，可以定向改变昆虫变态发育的进程，达到更有效地防治害虫的目的，或创造出全新的昆虫物种，使昆虫更加千姿百态、绚丽多彩，更好地为人类服务。

参 考 文 献

［1］ Truman JW，Riddiford LM. Endocrine insights into the evolution of metamorphosis in insects. Annu Rev Entomol，2002，47：467-500

［2］ Kawakami A，Kataoka H，Oka T，et al. Molecular cloning of the Bombyx mori prothoracicotropic hormone. Science，1990，247（4948）：1333-1335

［3］ Koelle MR，Talbot WS，Segraves WA，et al. The Drosophila EcR gene encodes an ecdysone receptor，a new member of the steroid receptor superfamily. Cell，1991，67：59-77

［4］ Truman JW，Riddiford LM. The morphostatic actions of juvenile hormone. Insect Biochem Mol Biol，2007，37（8）：761-770

［5］ Jones G，Sharp PA. Ultraspiracle：an invertebrate nuclear receptor for juvenile hormones. Proc Natl Acad Sci U S A，1997，94（25）：13499-13503

［6］ Truman JW，Thorn RS，Robinow S. Programmed neuronal death in insect development. J Neurobiol，1992，23（9）：1295-1311

撰稿人： 冯启理

华南师范大学

审稿人： 孙江华

蝙蝠是如何进化出飞行能力的？

How the Bat Evolved the Flight Ability?

在夏季的薄暮中搜寻天空，会发现一类进化成功得令人叹为观止的哺乳动物——蝙蝠。它们分布于除南极洲以外的所有大陆，具有极高的多样性，种类占现存哺乳动物种类的1/5[1]。蝙蝠进化得如此成功的关键，在于它们具有飞行能力，能够利用其他哺乳动物无法触及的资源。但它们飞行能力的进化又如此让人匪夷所思，除了蝙蝠以外，没有其他任何哺乳动物能够征服天空。事实上，这些夜空的主宰者如何从陆生祖先进化出飞上天空的能力，这个问题已经困扰了生物学家数十年。

蝙蝠的与众不同之处，就在于它们有一个标志性特征——翼[1]。而有些哺乳动物，如鼯鼠，虽然它也可以通过拍打连接前后肢的皮肤膜在树木之间滑翔，但它其实没有真正的飞翔器。学者们一般认为，蝙蝠可能是由树栖的、能够滑翔的祖先进化而来。但是在哺乳动物中，只有蝙蝠拥有比滑翔复杂得多的动力飞行能力，这主要归功于翼的特殊结构[2]。

大多数蝙蝠由于有特殊的听小骨和舌骨，所以它们还能够进行回声定位。通过发出高频声波并分析声波碰到物体后的回声，使得这些夜行性动物能够探测到物体和猎物，这比仅仅利用视觉要高级和有效得多[3]。

回声定位在蝙蝠成功进化和物种多样性形成中功不可没。但是，蝙蝠的飞行和回声定位这两种重要的适应性究竟哪个在先？它们为什么会进化出来，又是如何进化出来？对于这些问题，学者们一直争论不休，到20世纪90年代，出现了三种不同的假说[4]。①飞行在先假说：蝙蝠祖先为了提高运动灵活性、减少捕食消耗的时间和能量而进化形成了动力飞行[5]。根据这一猜想，回声定位行为随后进化形成，使早期蝙蝠更易于探测和跟踪那些原本仅能依靠飞行追逐的猎物。②回声定位在先假说：原始的蝙蝠在树间滑翔，利用回声定位捕食飞过它们栖息之处的猎物，回声定位的形成有助于蝙蝠跟踪更远的猎物。而动力飞行的进化在后，是为了提高运动性，使蝙蝠更容易返回原来的捕食地点[6]。③并行进化假说：飞行和回声定位同时进化。这一假说的基础是，实验证据表明：蝙蝠在静止时发出回声定位声波需要消耗大量能量，而在飞行过程中，回声定位的能耗则可以忽略不计。因为飞行肌的收缩有助于肺部呼吸，从而产生进行密集、高频发声所需要的气流[7]。

对于以上假说，要对其进行验证，唯一方法就是，将翼和较大的耳蜗等相应特征分别绘制在蝙蝠系统进化树上，从而确定它们分化的位置。然而，在20世纪90

年代之前，由于未发现具有上述特征的蝙蝠化石，研究者无法判断蝙蝠飞行和回声定位的起源。因为与现代蝙蝠一样，古蝙蝠体型较小、骨骼易碎，而且主要生活在物体腐烂迅速的热带栖息地。只有蝙蝠死亡的地点立刻被沉积物覆盖，尸体免受腐食动物和微生物等破坏的情况下，才会变成化石。因此，蝙蝠化石非常稀少，这给研究带来了很多困难。

直到20世纪90年代，食指伊神蝠化石（*Lcaronycteris index*，以希腊神话中代达罗斯之子伊卡罗斯命名，他因飞行中距太阳过近使蜡翼受热熔化坠海而亡）在美国怀俄明州著名的绿河地区（Green River Formation）被发现，它是有记录的蝙蝠中最古老、最原始的种，是5 250万年前的蝙蝠[7]。伊神蝠最显著的特征与现代蝙蝠极为相似：牙齿形状说明它捕食昆虫，与大多数现存蝙蝠相同；四肢比例也与现代蝙蝠相似，同样具有细长的指骨、延长的前臂和短小的后腿。这一物种的肩胛骨（scapula）、胸骨（sternum）和胸腔结构证明它们完全具有飞行能力。同时，它也具有回声定位所必需的解剖学结构[8]。实际上，如果伊神蝠存活至今，将很难与其他蝙蝠区分开来。所以我们亟待找出更古老的蝙蝠化石，以解决以上提出的难题。

从绿河地区出土的另一个蝙蝠物种——属名为 *Onychonyteris* 的两块化石则可能是蝙蝠进化过程中关键的一环。它们出土的岩层与伊神蝠相同，因此二者具有可比性。同时，*Onychonycteris* 既有原始特征又有现代特征，显然就是进化生物学寻找已久的过渡型生物[9]。与现存所有蝙蝠所具有的很长前肢和短小后肢相比，*Onychonycteris* 的前肢相对较短而后肢相对较长[10]。*Onychonycteris* 的四肢比例介于所有已知的蝙蝠（包括伊神蝠）与树獭、长臂猿等大部分依靠前臂移动的树栖哺乳动物之间。这些树栖哺乳动物多数时间吊挂在树上或在树木间攀援。蝙蝠可能由具有相似运动方式的树栖祖先进化而来。尽管具有原始的四肢特征，但 *Onychonycteris* 的其他解剖学特征表明，它们能够进行动力飞行。它较长的指能够支撑翼膜，有力的锁骨（collarbone）有助于将前臂固定在身体上。同时，较宽的胸腔和具有龙骨的胸骨能够支撑巨大的飞行肌，具有小面的肩胛骨能够支撑其他与飞行有关的专用肌肉。

此外，*Onychonycteris* 臂骨和指骨的比例说明，它们翼的纵横比很低，翼尖相对较小[10]。在现存蝙蝠中，只有鼠尾蝠（mouse-tailed bat）具有相似的短而宽的翼。鼠尾蝠具有拍翼滑行的特殊飞行模式，即有拍翼飞行期间进行较短的滑行。因此推测，*Onychonycteris* 也有同样的飞行模式。这种拍翼滑行可能是原始蝙蝠祖先滑翔运动与大多数现代蝙蝠持续拍翼飞行之间的过渡形式。与其他已知的始新世（55 880万年前至3350万年前）蝙蝠不同的是，*Onychonycteris* 似乎并没有与回声定位能力相适应的三种骨骼特化：它们耳蜗较小，锤骨隆起也相对较小，茎舌骨的顶部没有延伸。然而四肢和胸腔的特征明确显示，它们能够飞行。因此，

*Onychonycteris*代表了早期蝙蝠已具备飞行能力但尚未进化形成回声定位能力的一个阶段。但是，这个并不能证明其他类群的蝙蝠也是同样的进化模式。科学家们希望能够找到更多更合理的化石证据来证明到底是飞行能力在先，还是回声定位在先。并且，这两种能力对蝙蝠的适应进化到底起了怎样的作用？这是科学界即将继续进行探寻的科学谜题。

参 考 文 献

[1] Gerhard N. The Biology of Bats. New York：Oxford University Press，2000

[2] Robert JA，Michael JN，Jonathan HG. Relationships of Endemic African Mammals and Their Fossil Relatives Based on Morphological and Molecular Evidence. J Mamm Evol，2003，102，131-156

[3] Emma CT. Hear，hear：the convergent evolution of echolocation in bats. Research Focus，2009，97，201-210

[4] Donald EW. Bats in Question：The Smithsonian Answer Book. Melbourne：CSIRO Publishing，1997

[5] Luminita G. The External Nasal Cartilages in Chiroptera：Significance for Intraordinal Relationships. J Mamm Evol，2000，73，45-62

[6] James AS，Shelly Ak，Beatrice DL. Echolocation and hearing in the mouse-tailed bat，Rhinopoma hardwickei：acoustic evolution of echolocation in bats. J Comp Physiol，1984，124，76-87

[7] Gregg FG，Nancy BS. Fossil Evidence and the Origin of Bats. J Mamm Evol，2005，121，167-180

[8] Emma CT. A Molecular Phylogeny for Bats illuminates Biogeography and the Fossil Record. Science，2005，307，580-584

[9] Nancy BS，Kevin LS，Jorg H，et al. Primitive Early Eocene Bat from Wyoming and the Evolution of Flight and Echolocation. Nature，2008，451，818-821

[10] Luminita GO. The External Nasal Cartilages in Chiroptera：Significance for Intraordinal Relationships. J Mamm Evol，2000，83，134-149

撰稿人：李　明　刘志瑾

中国科学院动物研究所

审稿人：孙江华

基因组的进化与人类起源

Evolution of Genome and Human Origin

人类自诩为“万物之灵”。在达尔文的进化论提出之前，人们一直认为人是“神”按照自己的形象造的。然而，19 世纪中叶达尔文进化论的问世将人类和其他物种摆在了同等的地位。一百多年来，人类对自身起源的探索从考古学家对化石骨骼的描述到遗传学家对 DNA 序列密码的解析从未间断过。古人类学和遗传学的研究表明，人类大约在 500 万～600 万年前开始从共同祖先——大猿（如黑猩猩）中分化出来并走上独立进化的道路。众所周知，人类区别于其他灵长类物种的主要特征包括直立行走、使用复杂的工具以及发达的大脑和认知能力等[1]。然而，人类的基因组中究竟发生了什么与众不同的变化从而导致人类的起源？这仍然是生命科学的一个重大谜题[2]。

20 世纪 90 年代人类基因组测序计划的实施和完成不仅开创了基因组时代，同时也激发了对人类起源的遗传学机制的探索。研究的最初焦点是寻找所谓人类“特异”的蛋白编码基因的变化。人们发现，在人类的基因组中确实存在一些所谓的“快速进化”的基因[3]。例如，同人类脑容量相关的基因 *MCPH 1* 和 *ASPM* 在灵长类进化的早期其序列变异的速度比较慢，而在灵长类进化的后期尤其是人类的进化历程中发生了快速的变异，从而有可能在人类脑容量的急剧扩张中发挥作用[4,5]。另外一个典型的例子是同人类语言能力相关的基因——*FOXP 2*，它在整个脊椎动物的进化过程中都很保守，却唯独在人类起源中产生几个关键序列的变异，成为导致人类获得语言能力的关键基因之一[6]。然而，随着人们在全基因组水平对人和非人灵长类物种的比较发现，人类特有功能变异的基因数量相当有限，不足以解释人所具有的独特生物学特征。人们逐渐意识到，蛋白编码基因虽然重要，但它们也只是复杂生物功能网络中的一个层面，还有其他如基因表达调控等很多层面的精细调节和相互作用的参与。后来的研究发现，人类在基因表达水平和非人灵长类也存在显著的差异，这种差异集中体现在中枢神经系统，即大脑[7]。进一步的研究表明，非编码调控序列、RNA 基因、小 RNA（microRNA）基因、基因的选择性剪接和基因组大片段拷贝数变异（copy number variation，CNV）也在人类基因组的进化中发挥重要的作用[8]。因此，目前研究的进展暗示，人类起源的遗传机制可能是各个层面变异的综合效应。

虽然目前已经发现了一系列同人类起源相关的蛋白编码基因，但这些基因如何发挥生物学功能仍然是没有回答的问题。在技术层面，研究这些基因的功能，尤其

是人类特有变异的生物学效应面临很多困难。选择合适的动物模型进行基因操作研究是解决这些难题的重要途径。最近德国科学家在小鼠中通过遗传操作以人类的 *FOXP 2* 基因替代小鼠的 *FOXP 2* 基因，他们发现尽管小鼠并未获得“说人话”的能力，但其发声器官和大脑均发生了显著的变化，从而提示人类的语言基因 *FOXP 2* 可以提高发音的动力控制装置的微调能力[9]。对 *FOXP 2* 的转基因研究无疑是令人鼓舞的，但我们对其他基因的生物学功能目前还只停留在体外细胞水平的研究。另外，由于小鼠同人类的分歧时间很久并且其大脑同人类的大脑有很大的差异，在小鼠上得到的实验结果还是非常局限的。因此，采用同人类在亲缘关系更近的实验动物（如猕猴）进行遗传操作研究有可能带来突破性的进展。

除了对蛋白编码基因的研究，人们越来越认识到其他层面的变化可能对人类特有的生物学特征也发挥重要的作用。例如，人们在对人和几个代表性非人灵长类物种（黑猩猩等）的基因表达谱的比较中发现，大脑的基因表达谱相对于其他器官（如肝脏等）表现出人和非人灵长类间更显著的差异，从而提示基因表达水平的改变对大脑的进化可能具有重要作用。但是，基因表达是如何对大脑的发育和相应的认知功能进行调控的，有多少基因的调控在人类起源中发生了功能性的改变？我们仍然不太清楚。此外，其他的遗传调控机制，如小 RNA 和拷贝数量变异在人类起源中的作用也开始受到广泛的关注，尽管相关的研究才刚刚起步[10]。

在未来的研究中，除了解释各个层面遗传控制机制在人类起源中的作用以外，如何将这些层面的控制机制联系起来从而描绘一个完整的人类起源遗传机制的图画将是这一研究领域的终极挑战。攻克这一生命科学重大谜题无疑更需要不同学科的交叉与合作，尤其是神经生物学同进化遗传学的交融。同时，对人类起源遗传机制的研究不仅仅是一个基础的科学探索，其研究成果无疑对了解人类大脑的功能和精神疾病的遗传基础，攻克如老年痴呆等威胁人类健康的重大疾病可以提供崭新的视角和强有力的工具。

参 考 文 献

［1］ Herrmann E，Call J，Hernández-Lloreda MV，et al. Humans Have Evolved Specialized Skills of Social Cognition：The Cultural Intelligence Hypothesis. Science，2007，317：1360-1366

［2］ King M，Wilson AC. Evolution at Two Levels in Humans and Chimpanzee. Science，1975，188：107-116

［3］ Gilbert SL，Dobyns WB，Lahn BT. Genetic links between brain development and brain evolution. Nat Rev Genet，2005，6：581-590

［4］ Bond J，Roberts E，Mochida GH，et al. ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. Nat Genet，2002，32，316-320

［5］ Wang YQ，Su B，Molecular evolution of microcephalin，a gene determining human brain

size. Hum Mol Genet，2004，13：1131-1137
[6] Enard WM，Przeworski SE，Fisher CSL，et al. Molecular evolution of FOXP2，a gene involved in speech and language. Nature，2002，418，869-872
[7] Enard W，Khaitovich P，Klose J，et al. Intra-and Interspecific variation in primate gene expression patterns. Science，2002，296：340-343
[8] He L，Hannon GJ. MicroRNAs：small RNAs with a big role in gene regulation. Nat Rev Genet，2004，5：522-531
[9] Enard W，Gehre S，Hammerschmidt K. A Humanized Version of Foxp2 Affects Cortico-Basal Ganglia Circuits in Mice. Cell，2009，137：961-971
[10] Feuk L，Carson AR，Scherer SW. Structural variation in the human genome. Nat Genet，2006，7：85-97

撰稿人： 宿　兵
中国科学院昆明动物研究所
审稿人： 魏辅文

动物的配偶选择与婚配制度

Mate Choice and Mating System in Animals

在自然界中，除少数原核生物和低等动物进行无性生殖外，绝大多数动物进行有性生殖。有性生殖可以增强动物对环境的适应能力，并促使其更快速地进化。在有性生殖中，雌性动物在繁殖后代的能量投入方面常常要大于雄性，因此不同性别的动物的繁殖策略有所不同。一般情况下，为使繁殖成效达到最大，雄性个体将试图与尽可能多的异性交配，而雌性个体则在众多雄性之中选择质量较高的个体作为配偶。由于选择配偶并形成一定的婚配制度对于动物能否成功繁衍后代至关重要，因此有关配偶选择与婚配制度的研究一直是动物行为学的热点问题之一。

在许多动物中，雄性和雌性在形态和行为上具有明显的差异，例如，雄鹿头上有角，雄孔雀具有漂亮的尾屏，画眉雄鸟的鸣声婉转动听。繁殖季节来临之时，雌性动物往往对异性进行精心地选择。配偶选择是性选择的一个组成部分。性选择一词最早是由达尔文于 1871 年提出的。它是自然选择的一种特殊形式[1]，其实质是某一性别的个体之间为获得与异性交配的权利而发生的竞争。性选择主要通过两种方式而发生：一是相同性别的动物个体之间为争夺配偶发生直接竞争；二是通过特定的求偶炫耀来争取异性的青睐。前者可以促使动物变得更加强壮，而且格斗器官不断得到进化；而后者将促使某一性别的动物逐渐进化形成一系列能够吸引异性的形态学或行为学特征。

对于性选择的机制这个问题迄今尚无统一意见，但已经提出了一些假说，如“失控假说”、“特里弗斯假说”、“累赘原理”等[2]。其中 Fisher 提出的“失控假说”认为，建立在主动择偶基础上的性选择可以导致性二型特征的分化。雄性动物如果能够产生一个为雌性动物所喜爱的特征，将可能吸引更多的配偶并留下最多的后代。而雄性动物的吸引特征和雌性动物的主动选择行为是同时进化的。该假说能够解释雄孔雀尾屏的进化。“特里弗斯假说”则认为，在雄性不参加抚育后代活动的动物中，如果雌性有足够的辨别力使其所选择的配偶的基因质量优于其自身质量的话，那么通过使自己的基因与雄性个体的优质基因发生重组，雌性动物将能大大提高其后代的存活力。该假说在一定程度上可以解释头上角的大小在鹿科动物配偶选择中的作用。但该理论目前尚无法解释某个特征是如何在多个世代内逐渐确立和发展起来的。而提出“累赘原理”的 Zahavi 认为，某个性别的动物应该是以能够体现其真实存活潜力的特征为基础对异性进行配偶选择的。有些看起来似乎是“累赘”的一些特征，如雄鸟过长的尾羽、鹿类头上的巨型角等，实际上反映了这些动

物具有良好的存活潜力，因为这些“累赘”只能被那些身体强壮、适应性强的动物个体所拥有。

处于繁殖期的动物是如何对特定的异性个体进行选择的呢？研究发现，动物在选择配偶时所依据的标准一般有四个方面：①选择第二性征发育健全、求偶活动强烈且持久的个体作为配偶，如鸣禽在繁殖期多选择鸣声复杂多变的异性；②选择具有优质基因的异性个体交配，以提高后代的存活率和生殖能力；③选择占有优质领域和某些特定资源的异性；④选择有遗传互补性的个体作为配偶，以便增加后代的遗传多样性[3]。现有研究表明，影响动物选择配偶的因素有很多，但为什么不同的动物在择偶时会采用不同的标准？目前还没有一致的解释。

婚配制度是动物在进化过程中产生的，是与自然选择密切相关的一种现象。婚配制度是指在某一动物种群中，为获得配偶而普遍采用的行为策略。它包含如下四方面含义：①所获配偶数；②获得配偶的方式；③配偶联结存在与否及其特征；④异性个体提供亲体照顾的方式。作为一种进化对策，婚配制度是动物对内外环境适应的结果。决定动物婚配制度特征和进化的主要生态因素可能是资源的分布，如食物、巢址等在时间和空间上的分布状况等。

通常把婚配制度分为单配制和多配制两大类。单配制也称一雌一雄制，是鸟类中普遍存在的一种婚配方式。在这种婚配制度中，雌雄个体均没有独占多个配偶的机会和能力，它们共同承担育幼职责时所获得的适合度最大。多配制指某一性别的个体可以控制多个异性或可以获得与多个配偶交配的机会，包括一雄多雌制、一雌多雄制和混交制三种形式。其中一雄多雌制又可分为保卫资源型、保卫雌群型、雄性优势型、快速多窝型、多领域型等类型；一雌多雄制可包括保卫资源型、雌性控制型、合作型等类型。混交制即无论雌性还是雄性都可与一个或多个异性交配的婚配形式。在这种婚配制度下，动物个体之间一般不形成固定的配对关系，双亲抚育缺失或只有雌性对后代进行照料，雄性很少参与抚育后代的活动。现有研究显示，鸟类中有 6％的种类属于混交制，在一些田鼠和灵长类中也存在这种婚配制度。一般认为单配制是由原始的一雄多雌制进化而来，而一雌多雄制是由单配制进化而来。研究还发现，动物的婚配制度具有一定的可塑性，即它只在一定时期、一定环境压力下保持相对的稳定性。随着环境因素的改变，动物的婚配制度可能会发生改变。

以往对动物婚配制度的研究主要基于野外的行为学观察。这种传统的研究手段存在很大的局限性。随着 DNA 指纹图谱、微卫星 DNA 分析等分子生物学技术的应用，同一区域内不同动物个体之间的亲缘关系得到了准确的鉴别，动物婚配制度的研究获得了一些突破性进展。例如，在毛脚燕、大苇莺、双色树燕、鳞头树莺、蓝喉歌鸲、草原胡狼等以往认为是单配制的物种中，发现了很高比例的婚外交配（extra-pair copulation）的现象。婚外交配主要发现于单配制物种，但也存在于多

配制物种中。婚外交配可以导致“婚外受精的发生”。动物为什么选择婚外交配呢？有人认为是雌性动物为了从优秀的雄性个体那里获得优良基因以提高后代的适合度[4]，也有人认为是为了提高精子的竞争强度或降低因配偶不育而导致雌性不能受精的风险[5]。当然，婚外交配有时也需付出一定的代价，如当雌性具有婚外交配行为时，其配偶对后代的抚育投入有可能会减少[6]。那么动物是如何权衡发生婚外交配的利弊的？这种行为在进化上都有哪些意义？这些问题还需要进一步深入地研究。

参 考 文 献

［1］ 孙儒泳．动物生态学原理. 第三版．北京：北京师范大学出版社，2001. 253

［2］ 郑光美．鸟类学．北京：北京师范大学出版社，1995. 208-209

［3］ 尚玉昌．行为生态学．北京：北京大学出版社，1998. 72-74

［4］ Foerster K，Delhey K，Johnsen A，et al. Females increase offspring heterozygosity and fitness through extra-pair matings. Nature，2003，425：714-717

［5］ Hasson O，Stone L. Male infertility，female fertility and extrapair copulations. Biological Reviews，2009，84（2）：225-244

［6］ Wagner RH，Schug MD，Morton ED. Confidence of paternity，actual paternity and parental effort by purple martins. Animal Behavior，1996，52：123-132

撰写人： 张正旺

北京师范大学

审稿人： 张大勇　魏辅文

哺乳动物扩散之谜

The Puzzle of Mammal Dispersal

扩散是生态学与进化生物学研究的热点问题，扩散生态学也成为生物学领域一门新的分支学科。扩散是动物个体离开其出生地迁移到繁殖地或潜在繁殖地的过程[1]，它影响着动物的种群动态和遗传变异的空间分布格局，是一个重要的生态和进化过程[2]。在个体水平上，扩散可以避免近亲繁殖，减少具有亲缘关系个体间的资源和繁殖竞争；在种群水平上，扩散一方面可以扩大物种分布区，防止种群萎缩，另一方面可促进种群间基因交流，影响种群的遗传结构和遗传多样性；在生态系统水平上，扩散在群落的结构和功能中也发挥重要作用[3]。

扩散有出生扩散和繁殖扩散之分。出生扩散是指幼年个体从出生地迁移到第一次繁殖地或潜在繁殖地的过程，繁殖扩散是指成年个体在繁殖地之间的迁移[1]。动物的出生扩散通常是偏性的，一种性别比另一种性别更倾向于留居或扩散。至于哪种性别更倾向于留居或扩散，各个类群的物种有所不同。一般规律是，鸟类的扩散模式是偏雌性的，而哺乳类则是偏雄性的。繁殖扩散在大多数鸟类和哺乳类的繁殖季节都会发生，雌雄都有可能扩散。但是，与出生扩散相比，繁殖扩散的距离相对较短。然而由于研究尺度与方法的局限，许多哺乳动物的扩散模式并不清楚，关于繁殖扩散的模式更少有报道。

为什么动物的雌雄性别会选择不同的扩散行为呢？这可能是动物在自然选择压力下对扩散获益及付出代价的一种博弈[4]。扩散的动物会由于不熟悉新领地而增加被捕食和感染新疾病的概率，最终导致死亡风险增加；但是，通过扩散它们可获得较丰富的资源，增加找到配偶的机会，避免近亲竞争和近交，从而增加了拓殖的机会。当某种性别在扩散时所获得的收益大于所付出的代价时，这种性别就更倾向于扩散；相反，它们会选择留居。根据收益和代价的博弈论观点，衍生出了三个经典假说，用来解释动物偏性扩散的进化机制，这些假说通常是与物种的婚配制度相联系的。一是资源竞争假说，这个假说认为：因为熟悉出生地，留居者将能更好地利用出生地的资源，获得更多的交配机会，从而获得更大的生殖适合度收益。因此，在多配制（一夫多妻制和一妻多夫制）的物种中，因为雌性需要保卫领域内的资源和繁育后代，留居比扩散能获得更大的收益，所以表现出偏雄扩散；而在单配制（一夫一妻制）的物种中，雄性不仅需要抚育后代，还需要获得足够的资源以吸引雌性，留居比扩散能获得更大的收益，因此表现出偏雌扩散。二是局部配偶竞争假说，这个假说认为：留居增大了同性别近亲个体争夺配偶的竞争，具有最大生殖潜

力的性别将经受更大的自然选择压力而选择扩散，从而获得更大的直接或间接的适合度收益。因此，在多配制的物种中，由于雄性之间将为获得优先交配的机会而竞争，近亲个体的留居将加大竞争压力，减少适合度收益，所以表现出偏雄扩散；而在单配制的物种中，由于雄性和雌性不需要为获得优先交配权进行竞争，因此，雌雄之间扩散的比率无显著差异。三是近交避免假说，这个假说认为：留居者将冒着近亲交配的风险，特别是与父亲或母亲交配的风险，所以冒最大风险的性别将选择扩散。在多配制的物种中，只有雌性抚育后代，在繁殖区域后代与它的母亲具有最近的亲缘关系，因此为避免近交，在后代中雌性留居将比雄性留居更安全，从而表现出偏雄扩散；而在单配制的物种中，雌雄双方都需要抚养后代，在繁殖区域后代与它的双亲具有相同的亲缘关系，因此雌雄之间扩散的比率无显著差异。这些假说的预测结果与许多来自实践的研究结果基本相吻合：大多数哺乳类都是多配制，具有雌性保卫资源型的领域行为，因此具有偏雄的扩散模式；而大多数鸟类都是单配制，具有雄性保卫资源型的领域行为，因此具有偏雌的扩散模式。即使部分不符合上述扩散规律的鸟类或哺乳类，基于婚配制度的假说解释仍是成立的，即单配制的哺乳类，它们的扩散模式是偏雌的；多配制的鸟类，它们的扩散模式是偏雄的。

然而令人不解的是，仍有少部分哺乳类，尽管它们的婚配制度为多配制，但它们不符合哺乳类的扩散规律，而是偏雌扩散模式[5]。关于这类动物的扩散模式的进化机制还知之甚少，有待于进一步研究。随着对野生动物扩散模式进化机制的深入研究，出现了一些新的假说用于解释偏性扩散模式，如配偶选择假说，即雌性的配偶选择驱动了偏雄扩散模式[6]。这些新假说的提出开拓了我们的研究视角，但其实践上的普遍性尚需进一步验证。人类活动导致的栖息地丧失与破碎化减少了野生动物赖以生存的空间资源与食物资源。与此同时，为了适应栖息生境的变化，野生动物的扩散行为也在一定程度上随之发生变化。栖息地丧失与破碎化怎样影响哺乳动物的扩散行为，影响程度有多大仍不得而知，这也是当前保护生物学广泛关注的问题[7]。因此，对哺乳动物扩散规律及其进化机制的深入研究，会进一步完善与丰富动物扩散模式理论，有助于更好地进行野生动物保护与管理。

许多野外实验方法，如标记重捕法、无线电遥测法等用于研究哺乳动物的扩散规律，但由于研究范围小、分析样本量少等原因而不能得出明确的结论。随着近年来新方法（如分子生物学方法）和新技术（如 GPS 颈圈、卫星跟踪等）的发展，使得明确揭示哺乳动物扩散规律、深入探讨其进化机制成为可能。例如，在分子遗传研究方面，采用非损伤性取样方法研究种群扩散模式逐渐得到较多的应用，该方法既不需要捕捉动物，又能获得较多的个体信息，很适用于那些警惕性高和栖息生境复杂的濒危动物[5]。GPS 颈圈和卫星跟踪的开发应用，克服了以前无线电遥测法在时间和空间上的限制，从而能揭示较大的空间尺度与时间尺度上的动物扩散行

为。这些新方法、新技术有望在将来广泛应用到哺乳动物的扩散模式的研究中，进一步深化对哺乳动物扩散模式及进化机制的认识。

参 考 文 献

[1] Greenwood PJ. Mating systems，philopatry and dispersal in birds and mammals. Anim Behav，1980，28：1140-1162

[2] Coltman DW. Differentiation by dispersal. Nature，2005，433：23-24

[3] Dieckmann U，O'Hara B，Weisser W. The evolutionary ecology of dispersal. Trends Ecol Evol，1999，14：88-90

[4] Forero MG，Donazar JA，Hiraldo F. Causes and fitness consequences of natal dispersal in a population of black kites. Ecology，2002，83：858-872

[5] Zhan XJ，Zhang ZJ，Wu H，et al. Molecular analysis of dispersal in giant pandas. Mol Ecol，2007，16：3792-3800

[6] Honer OP，Wachter B，East ML，et al. Female mate-choice drives the evolution of male-biased dispersal in a social mammal. Nature，2007，448：798-801

[7] Ferriere R，Belthoff JR，Olivieri I，et al. Evolving dispersal：where to go next? Trends Ecol Evol，2000，15：5-7

撰稿人： 胡义波　魏辅文

中国科学院动物研究所

审稿人： 郑光美　张彦云

动物种群数量的调节之谜

How Animals Regulate Their Population Numbers?

在自然界中各种生物都按照自然规律调整着种群数量，维持着家族的延续。关于动物种群数量的调节规律，尤其是周期性种群的暴发和衰退，一直是一个迷人的现象。英国学者 Charles J. Elton 在 20 世纪 20 年代首次报道了啮齿类种群数量的周期性波动现象。80 多年来，学者们研究了众多不同的动物种群，进行了无数的野外实验和室内实验，关于动物种群数量的调节理论，已提出了几十种假说[1]，但迄今还没有一个假说能较好地解释动物种群的周期性波动。

种群调节是种群生态学的一个核心问题。动物种群数量动态和调节的研究，主要有三个方面的问题：①是什么因素导致了种群的生长？②是什么因素限制了种群的平均多度？③是什么因素限制了动物的地理分布？影响动物种群数量变化的因素很多，学者们对自然种群、实验种群、围栏种群等各种方法，已经进行了几十年不懈的探索。从食物、天敌、种间关系、群落结构和生态系统稳定等不同角度，都进行了深入系统的研究，关于行为、免疫、生理学应急、遗传学和气候因素的作用和地位，已经积累了丰富的数据和理论。

在自然界中，动物种群数量不会无限制地增长，但会表现出数量上的消长。一个典型的动物种群的周期性变化可以分为增长期、高峰期、衰减期和低数量期。关于动物种群的增长和数量调节，主要有三方面的理论：一是气候学派，强调气候在影响种群大小中的决定性作用；二是生物学派，认为密度制约因子对于阻止种群增长和决定种群数量是至关重要的；三是自我调节学派，主要强调种群内个体的形态、生理和行为等特征的差异对于种群数量的变化调节是重要的。尽管学者们持有不同的观点，但对于这个复杂的现象进行单一因子的研究已经逐渐不为人所关注，多因子（复合因子）理论受到了大多数学者的重视。著名种群生态学家 Krebs[2,3]曾较为系统地阐述了小型哺乳动物种群的周期性波动假说，他认为解释种群周期性的假说和理论概括起来主要包含下列几方面因素：食物、捕食、个体的异质性和复合因子。

种群调节理论的发展历史，大致经历了三个主要阶段：第一阶段从 20 世纪 20 年代到 50 年代为止，主要强调外部因素的作用，以对自然种群的宏观描述和直观分析为主，积累了一些鼠类数量周期性波动的例证；第二阶段从 50 年代初至 90 年代末，关于实验种群的研究和实验方法的应用受到了学者的重视，提出了一系列解释种群数量变动规律的内因性假说，如内分泌调节学说、遗传调节学说以及行为-

领域学说等，许多学者试图从个体的生理、生化和遗传结构的变化来探讨种群动态的调节机制；第三阶段从 90 年代开始，由于新技术和新方法的应用，以及不同学科的交叉和渗透，尤其是小型哺乳动物种群数量波动及调节机制研究进入了一个全新的历史时期，以田鼠、旅鼠和兔类等数量变化较大的物种为代表，学者们从不同层次和角度对种群调节理论进行了探讨，通过对长期积累资料的统计分析和模型化，预测种群的未来动态；通过对个体生理生化和分子水平的研究，探究种群调节的分子机理[4-6]。

由于低数量期可使种群的周期产生时滞，所以很多研究都集中在动物种群的低数量期[7]。在啮齿类中这个时期可持续 1～2 年，在美洲兔中可持续 2～4 年。理解动物种群低数量期的内在机制，是解释种群周期性的关键所在。目前，学者们对此提出了许多假说，比较受关注的有多形态行为学机制、社会生物学机制和衰老-母体效应机制等[2,3,8,9]。如衰老-母体效应机制认为，母体质量的改变发生在整个种群高峰期内的动物中，并能够延续到种群的衰减期和低数量期。在低数量期时，种群内的老年个体增多，会导致它们不能维持正常的内分泌状态，这样通过影响后代的存活和生殖能力而将种群维持在低数量期，从而调节种群的周期[10]。经过几十年的发展，Krebs 认为有 3 种途径可以用来解释小型哺乳动物种群动态[2]，尤其是低数量期的现象：①基于密度依赖性和频率依赖性的自然选择所产生的基因型的改变参与了种群密度的调节；②由与数量拥挤相关的社群相互作用和繁殖状态所导致的行为和生理学效应，对周期性动物种群内的个体会产生影响；③动物在早期生活史过程中的母体效应对个体的生理发育和功能具有持久的影响。

尽管学者们进行了 80 多年的探索和努力，取得了很大的进展，但关于动物种群数量的影响因素和调节规律，依然没有一个最后的答案（图 1），还有许多问题需要解决：需要长期的、大尺度的野外实验研究结果，需要更详细的关于实验种群的结果，需要更强有力的种群动态统计分析方法，需要更多的个体水平的行为、生理和遗传等方面的信息，需要更详细的群落中不同种群之间相互关系的信息，需要寄生虫、疾病和免疫功能对种群动态生理作用的信息，需要关于热带地区动物种群数量的变动信息，等等[1-3]。希望在不久的将来，人们能够解开动物种群数量变化与调节的谜团。

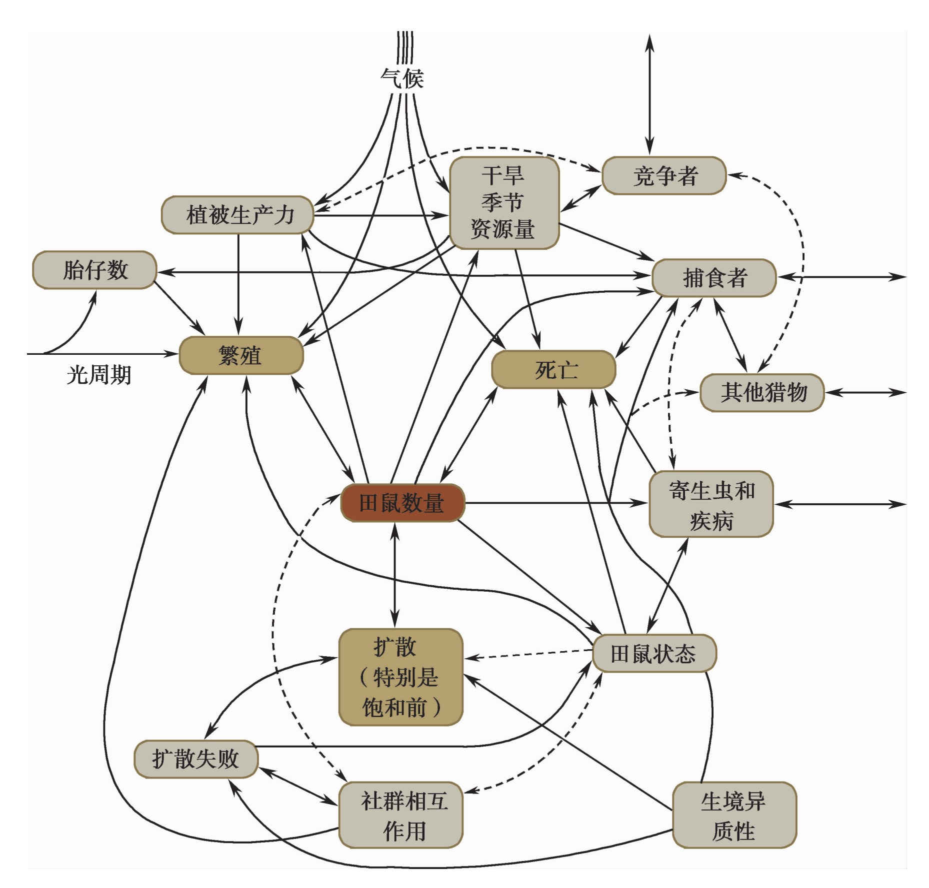


图 1 影响田鼠种群数量动态的因素[11]

实线代表已经知道有确切影响的因素，虚线代表可能会产生影响的因素

参 考 文 献

[1] Batzli GO. Dynamics of small mammal populations：a review. In：McCullough DR，Barrett RH. eds. Wildlife 2001：populations. London：Elsevier Applied Science. 1992：831-850

[2] Krebs CJ. Population cycles revisited. J Mammal，1996，77：8-24

[3] Krebs CJ. Current paradigms of rodent population dynamics—what are we missing? In：Singleton GR，Hinds LA，Leirs H，et al. Ecologically-based management of rodent pests. Canberra：ACIAR. 2003：33-48

[4] 张知彬．鼠类种群数量的波动与调节//王祖望，张知彬．鼠害综合治理的理论和实践．北京：科学出版社．1996：145-165

[5] 张志强，王德华．小型哺乳动物种群周期性波动的外因调节假说．生态学报，2004a，24(6)：1279-1286

［6］ 张志强，王德华．小型哺乳动物种群周期性波动的自我调节假说．兽类学报，2004b，24（3）：260-266

［7］ Boonstra R，Krebs CJ，Stenseth NC. Population cycles in small mammals：the problem of explaining the low phase. Ecology，1998，79：1479-1488

［8］ Wolff J. Population regulation in mammals：an evolutionary perspective. Journal of Animal Ecology，1997，66：1-13

［9］ Boonstra R. Population cycles in microtines：the senescence hypothesis. Evolutionary Ecology，1994，8：196-219

［10］ Boonstra R，Hik D，Singleton GR，et al. The impact of predator-induced stress in the snowshoe hare cycles. Ecological Monographs，1998，79（5）：371-394

［11］ Lidicker Jr WZ. Solving the enigma of microtine "Cycles" . J Mammal，1988，69：225-235

撰稿人：王德华

中国科学院动物研究所

审稿人：张大勇　魏辅文

生物的体型为什么有如此深远的影响?

Why Body Size Is So Important?

在五彩缤纷的生物世界中，各种生物的体型的（即身体大小）差别非常大，这可以说是生物（也包括人类）在形态学上最明显、最重要的特征了。现在已经积累的科学数据表明，体型这个形态学特征具有丰富的生物学内涵，令人迷惑的是，它对几乎所有的生物学特征，无论是结构的还是功能的，都具有重要的、深远的影响。例如，体型可以影响生物的生态学、地理学、行为学（如觅食、繁殖婚配）、生理学（如代谢、消化）、生长发育和进化过程，甚至分子生物学特征（如DNA）等。那么，生物的体型有哪些生物学意义呢？其背后有怎样的生物学机理呢？为什么会对生物学特征产生如此广泛的影响呢？

生物的行为、形态和生理等特征与体型之间存在着一种定量关系，也就是说这些生物学特征会随着生物体型的变化而产生定量的变化。生物体的生物学特征与体型的这种依赖性关系称为异速增长关系（allometry）。这种关系可以用一个数学表达式表示：$Y = aX^b$，其中Y为生物学变量（如动物的代谢率、脑的重量、心率等）；X为体型（一般用体重表示）；a为常数；b为函数幂（也称尺度因子）。根据这个公式，可以推测，如果变量与体型是线性关系，则$b=1$；当体型对变量没有影响时，则$b=0$。在非线性关系中，如果生物学变量改变的比例小于体型改变的比例时，则：$0<b<1$；当生物学变量改变的比例大于体型改变的比例时，则$b>1$。Huxley在20世纪20年代提出用一个幂函数描述生物的相对生长时，就引入了异速增长的概念，之后不同领域的研究者们提出了大量的异速生长经验公式，有关这方面的研究也有许多重要著作出版，如Peters的《体型的生态学意义》[1]。Peters在他的著作中，列出了1000多个异速增长公式以描述不同的动物特征与体重的关系。有趣的是这些异速增长方程的尺度指数$b=3/4$或$b=2/3$。目前学术界一直争论的一个主要问题是，b值到底是2/3还是3/4[2-5]？

最著名的异速增长方程应该是著名动物能量和营养学家Max Kleiber在生理学中提出的哺乳动物的代谢率随体重的0.75次幂进行变化（$b=3/4$），这就是经典的“鼠-象”曲线，也被称为Kleiber规律（或3/4定律）。迄今，在哺乳类、鸟类，甚至更高的分类阶层（如内温动物和外温动物）以及单细胞生物中也建立了众多类似的异速增长方程（图1）。由于在内温动物中，动物产生的热量是通过体表散失的，而动物的体表面积与体重的关系尺度是2/3，所以动物的能量代谢与体重的尺度关系应该是2/3（或称2/3定律）。

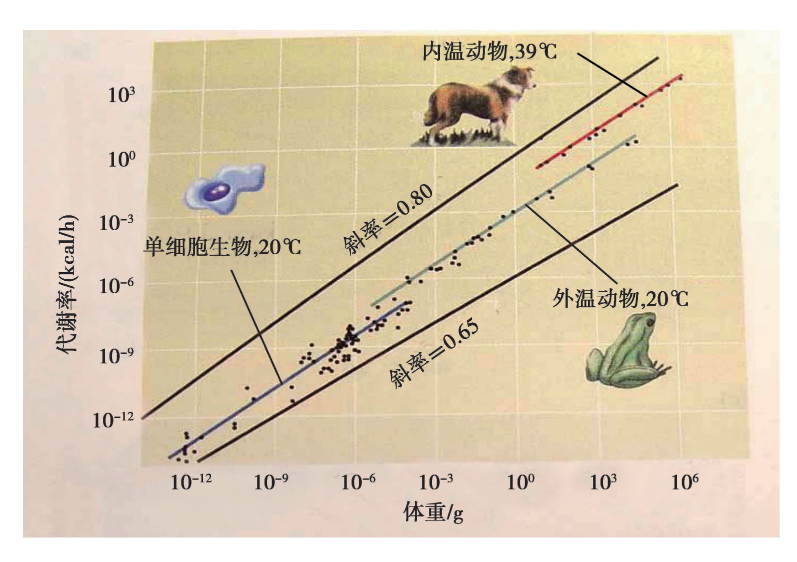


图 1　不同生物类群（包括单细胞生物）的代谢率与体重的关系[6]

实验生物学者和理论生物学者通过各种途径验证异速增长规律，研究发现 b 值的范围是 2/3～3/4 [7]。2/3 定律或 3/4 定律都得到了理论和实验研究的支持[2,4]。由于 2/3 定律的物理基础的限制，学者们近年来更倾向于 3/4 定律，人们提出了许多理论试图解释为什么 b= 3/4。West 等[8]根据模型提出了异速增长定律 1/4 幂的分形理论（fractal theory of quarter power allometric law）。由于生物的结构和功能受系统的资源（如氧、营养物质和水分等）供应速率的影响。这个理论的一个主要的假设是，在对一个能量转换单位（如有机体内的细胞、线粒体和细胞中的呼吸分子等）提供资源供应时，有机体是利用类似分形的、分级转换系统进行的。还有两个基本假定：①分形式的转运网络的最后分枝是进行物质转换的场所，最后的分枝大小应该是不变的（即大象与鼩鼱的微血管的直径是相同的）；②有机体通过这种分形网络进行物质传递时会使所需要的能量最小化，这个机制是自然选择进化来的。这就是代谢率（或其他特征）与体重的尺度指数是 3/4 的原因。

Dodds 等利用整合分析（meta-analysis）方法重新分析了已经发表的关于鸟类和哺乳动物的基础代谢率（BMR）的数据，没有发现拒绝 b=2/3 而支持 b=3/4 的证据[9]。近年的许多研究也表明，似乎不存在一个单一的尺度指数，更多的研究结果支持多元尺度指数。Glazier 详细总结了种内和种间的尺度指数，指出 3/4 幂定律不是普遍存在的，并提出了代谢水平界限假说（metabolic-level boundaries hypothesis），即根据动物的不同代谢水平和生理状态（如冬眠、蛰伏和冷刺激等），代谢尺度的变化范围从 2/3 到 1[10]。Darveau 等也指出导致动物整体代谢尺度指数变化的驱动力不是单一的，而是在代谢通路上多元控制的，并提出了一个多因素模

型（multiple-cause model）[11]。他们认为 b 值是对代谢和控制的多元贡献因素影响的总和，例如，通过计算发现氧气供应速率对于基础代谢率的 b 值没有任何影响，但对于最大代谢率的 b 值则具有较大的影响。

最近 Brown 等提出的生态学代谢理论（metabolic theory of ecology，MTE），使生物的体型和代谢之间的关系又有了新的、更广泛的生态学意义[11]。MTE 理论实际上是 Kleiber 规律的扩展，认为有机体的代谢速率是功能性的生物学速率，可以控制生态学的格局。MTE 理论可以解释个体、种群和群落，以及生态系统等不同水平上的一些现象和问题，如在个体水平上可以解释物种的生活史特征问题，在种群和群落水平上可以解释种群增长和群落多样性的问题，在生态系统水平上可以解释温度与生物量生产力的关系。目前对于 MTE 理论及其潜在的应用价值尚有争议。

异速增长定律有哪些重要意义呢？一个重要的意义就是有利于我们解释在一个很大的体重变化范围内各种生命现象的变化。同时这个尺度定律也表明，很可能有机体具有一个相似的，甚至是普遍的身体设计原理，而在这些现象背后的这个原理对于我们理解生命世界是非常重要的。异速增长规律至少有两个基本的应用：①在没有直接办法进行相关测定的生物中，如果体重很容易测定的话，可以用来预测生物的有关特征的变化；②将实际测定结果与预测结果进行比较，可以根据测定物种与整体变化模式的差别，解释生物对环境的适应方式。

异速增长规律被认为是一个很强大的预测工具，可以促进生态学理论的发展。体型的生物学意义及其机理的解释，对于我们理解和解释当今众多的生物学现象（问题）是有很多帮助的。关于体型的其他影响，我们仍有很多困惑，如不同体型的生物如何在一个群落中和谐共存？体型的意义在种内和种间有什么差别？体型与性选择、能量代谢、大脑发育、身体发育、肥胖、衰老、繁殖、哺乳时间、种群数量增长等存在什么关系，其背后的生物学意义和机理是什么？这些问题迄今都没有很让人满意地解释。深入理解异速增长规律无疑会促进生物学某些领域（理论）的发展。诚然，除了体型外，其他因素也在生物的功能变化中具有重要的作用。

参 考 文 献

[1] Peters RH. The ecological implications of body size. Cambridge：Cambridge University Press. 1983

[2] White CR，Seymour RS. Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass $^{2/3}$. Proceedings of the National Academy of Sciences（USA），1983，100：4046-4049

[3] White CR，Cassey P，Blackburn TM. Allometric exponents do not support a universal metabolic allometry. Ecology，2007，88：315-323

[4] Farrell-Gray CC，Gotelli NJ. Allometric exponents support a 3/4-power scaling law. Ecology，2005，86：2083-2087

[5] Savage VM，Gillooly JF，Woodruff WH，et al. The predominance of quaternary-power

scaling in biology. Functional Ecology，2004，18：257-282

［6］ Hemmingsen AM. Energy metabolism as related to body size and respiratory surface，and its evolution. Rep Steno Mem Hosp Nordisk Insulinlaboratorium，1969，9：1-110

［7］ West GB，Brown JH，Enquist BJ. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. Science，1997，276，122-126

［8］ Dodds PS，Rothman DH，Weitz JS. Reexamination of the '3/4-law' of metabolism. Journal of Theoretical Biology，2001，209：9-27

［9］ Glazier DS. Beyond the '3/4-power law'：variation in the intra- and interspecifc scaling of metabolic rate in animals. Biological Reviews，2005，80：1-52

［10］ Daveau CA，Suarez RK，Andrews RD，et al. Allometric cascade as a unifying principle of body mass effects on metabolism. Nature，2002，417：166-170

［11］ Brown JH，Gillooly JF，Allen AP，et al. Toward a metabolic theory of ecology. Ecology，2004，85（7）：1771-1789

撰稿人：王德华

中国科学院动物研究所

审稿人：张大勇　魏辅文

鱼类的洄游和定向机理

Mechanism of Direction and Migration of Fish

运动是鱼类生命活动的基本特征之一。我们经常看到某些鱼类为了摄取食物或逃避敌害而移动，这类运动常是单纯地受条件反射影响而产生的，缺少定期的、定向的规律性，一旦引起运动的条件消失，相关运动也就停止。另一类运动是在鱼类的生活过程中出现的周期性集群的定向运动，这样的运动常常有一定的距离，这类运动被称为洄游（migration）[1-3]。

洄游是鱼类的一种重要的运动形式，很多鱼类具有这样的特性，如为人们广泛熟知的鳗鲡（*Anguilla japonica*）、大量的鲟形目（Acipenceriformes）鱼类、鲑鳟（Salmon）鱼类等均具有该特征。依据不同鱼类洄游的特点，可将鱼类的洄游划分出不同的类型。依据洄游的动力，可分为主动洄游和被动洄游。主动洄游是鱼类依靠自身运动能力的洄游，被动洄游是借助水流的动力产生的移动（如一些鱼类早期发育阶段的漂流）。依洄游的方向，又有水平洄游和垂直洄游的之分。水平洄游中又可分为向陆洄游和离陆洄游，前者是指鱼类由海洋进入河流，或自大洋游向沿岸，或自河流下游向上游的移动；后者指沿河而下，由河入海，或由沿岸向大洋的移动。此外，近年来还注意到，有很多鱼类为了生殖有自内陆一些大湖湖区向入湖河流的洄游；冬季来临前，有自河流的浅水区向深水区（深潭或沱）甚至是向与河流连通的洞穴地下水中洄游越冬的习性，这些也应属水平洄游的范畴。垂直洄游则是指鱼类在水体上、下层之间的垂直运动。一些鲽鲆类和虾虎鱼类，个体发育的某一阶段会由浮游型生活转为底栖，这样的洄游也应属于垂直洄游。

尽管鱼类洄游的形式多种多样，但依洄游的目的可将洄游划分为三大类，即生殖洄游、索饵洄游和越冬洄游（图 1）。

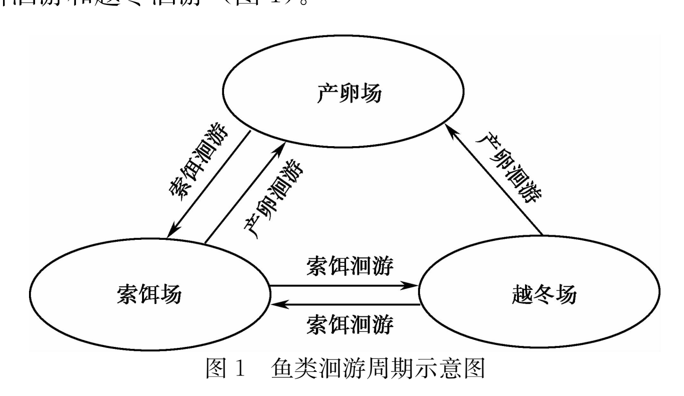


图 1　鱼类洄游周期示意图

鱼类洄游的成因至今仍然没有彻底阐明，许多解释也还仅是假说，有待验证。洄游作为很多鱼类种或不同地理种群间的一项重要行为特征，应该是在进化过程中形成的。从生物进化的观点来看，物种在进化过程中总是会将有利于物种延续的特性或行为保留下来。例如，在追逐食物、躲避敌害或离开不利环境的过程中，通过自然选择，就会由不定向的、没有规律的移动，转为有方向的、周期性的运动。洄游有相当强的遗传性。事实上，绝大多数洄游也都是和鱼类寻求最基本的生活条件，诸如理想的繁殖场所、丰富的饵料生物、适宜的生存温度等密切相关。在洄游形成过程中，即可能有历史因素的作用，也可能受到环境因素的影响，还可能与鱼体本身的遗传因素、鱼体内部一系列生理变化、能量学因素[3]等相关。

定向洄游是如何在不定向的运动基础上发展而成的呢？这是另一个非常复杂、至今仍尚未被完全认识的问题。对于过河口性鱼类的回归本能及其定向机制（orientation mechanism）的研究始于 20 世纪 50 年代，直至最近，仍有不少探讨河口性鱼类定向机制的研究报道[1,5-9]。研究证明，溯河性鲑可以有多达 95％的繁殖亲鱼能够回到其出生地[10]。鱼类的这一精密定向行为可能与太阳、月亮、极光、地磁场，或水流、水温、水化学等环境因子的作用有关，有可能是其中单一因子的作用，也可能是某几个因子综合作用的结果。总之，现在人们还无法确定具体的洄游定向的影响因子。但可以肯定，鱼类在洄游过程中会依靠自身复杂敏感的感觉器官（如视觉、味觉、侧线系统等）和中枢神经系统，接受外界物理的、化学的定向信息，精确定位，从而使回归获得成功。如果没有这样的定位过程，几乎无法想像鱼类会在视野局限的水体中，定位到大洋中的某一处特定海区；淡水中的某一特定洞穴、某一处浅滩或深渊，经过上千公里的跋涉，急流勇进定位到某一条溪流。

目前，研究鱼类洄游的方法主要有生物学方法和标志放流法。生物学方法主要是通过对研究对象一些生物学指标变化的研究，探讨洄游鱼类的洄游机制和定向机制；标志放流法主要包括切断标志法（切断部分鳍条）、外部标志法（将标牌或标签挂夹在尾柄、背鳍或鳃盖上等）、内部标志法（如通过在鱼体内植入声音发射器对其洄游线路进行跟踪）、同位素标志法（同位素标志重捕示踪）等。生物学方法常常会为了某一项研究目的而耗费大量的人力、物力、财力；标志放流法也常由于回捕率低而很难得到理想的结果。总之，鱼类的洄游问题是人类长期关注的一个自然问题，仍有很多待解之谜。近年来，鱼类学家们继续不断地从生态学、生理学、遗传学、形态学（感觉器官）等方面，对鱼类的洄游及定向问题积极开展进一步深入的探索。例如，通过对鳗鲡耳石日轮和耳石上锶/钙值变化的研究，推测鳗鲡游历过程中的环境变化（海水、淡水生活环境的转变），就是一项新的探索。

掌握鱼类的洄游规律，在渔业生产上具有极其重要的意义。每年到了一定季节，一些鱼类特别是一些有重要经济价值的鱼类会集群洄游，其游经路线和群集产卵、索饵、越冬的地点往往就形成了集中捕捞的场所，形成“渔汛”或渔场。目

前，人类对生存环境的严重破坏已是不争的事实，大量水环境受到污染，水电建设使很多河流被阻断，已知的洄游鱼类和那些未知的可能有洄游特性的鱼类的生存受到严重威胁，甚至有些鱼类已消失。掌握鱼类洄游规律对鱼类资源的合理利用、水污染的防控、水电科学利用和开发等都具有重要的指导意义。随着科学技术的发展和研究的深入，我们终将逐步揭开鱼类洄游本质的神秘面纱。

参 考 文 献

[1] McKeown BA. Fish Migration. London：Croom Helm，1984
[2] 殷名称．鱼类生态学．北京：中国农业出版社，1995：171-187
[3] 李明德．鱼类生态学．北京：中国科学技术出版社，2009：148-163
[4] Brett JR. Production energetic of population of sockeye salmon，*Onycorhynchus nerka*. Can J Zool，1986，64：555-564
[5] Hasler AD，Wisby WJ. Discrimination of stream odors by fishes and relation to parent stream behavior. Am Nat，1951，85：223-238
[6] Shoji T，Ueda H，Ohgami T，et al. Amino acids dissolved in stream water as possible home stream odorants for masu salmon. Chem Senses，2000，25：533-540
[7] Ueda H. Artificial control of salmon homing migration and its application to salmon propagation. Bull Tohoku Nat Fish Res Inst，1999，62：133-139
[8] Ueda H，Shoji T. Physiological mechanisms of homing migration in salmon. Fish Sci，2002，1：53-56
[9] Yamada H，Amano M，Okuzawa K，et al. Maturational changes in brain contents of salmon GnRH in rainbow trout as measured by a newly developed time-resolved fluoroimmunoassay. Gen Comp Endocrinol，2002，126：136-143
[10] Hasler AD，Scholz AT. Olfactory Imprinting and Homing in Salmon. Berlin：Springer-Verlag，1983

撰写人：张春光
中国科学院动物研究所
审稿人：魏辅文

熊猫的“伪拇指”是如何进化形成的?

How Does Panda's “Pseudo-thumb” Evolved?

大熊猫和小熊猫的两个前掌在抓握东西时和人或猴子一样灵活方便。这种令人惊诧的灵活性得益于它的前掌有一个能与第一指对握的“伪拇指”。从解剖学来看，熊猫的“伪拇指”根本不是手指——跟人类偶尔多出来的第六指完全不同。这个“伪拇指”其实是由一节腕骨特化而来的，其解剖学名词叫做“桡侧籽骨”[1]。所有的食肉目动物都有桡侧籽骨，但只有大熊猫和小熊猫的桡侧籽骨因比例极端增大而形成“伪拇指”[2]。围绕“伪拇指”这一有趣的现象，人们提出了很多问题。对于一个个体而言，“伪拇指”是如何发育而成的？对于熊猫而言，为什么会有这样神奇的生理结构？

首先，对于个体发育来说，“伪拇指”的发育显然是肢端发育到某个阶段时才会形成的。肢芽（limb bud）尖端的发育过程在脊椎动物中是非常保守的[3]。通过以鸡胚、小鼠等实验动物作为平台，人们已经鉴定了一系列与肢末端发育相关的重要基因及其相关作用机制[4]，如 FGF 基因家族中的一些成员能诱导肢芽的形成并维持其生长[5]；*SHH* 基因亦参与了肢芽的发育决定[6]；而 HOX 基因家族中的 posterior HOX 亚家族（包括 4 个基因簇上 *Hox 9* 到 *Hox 13* 总共 16 个基因）参与了从肩带到肢末端的分化[7]。一些证据显示，从 *Hox 9* 到 *Hox 13* 依次对应肩胛骨到指骨的发育。依此推断，似乎作为腕骨组成部分的桡籽骨应该与 *Hox 12* 基因的调控关系最密切。当然，“伪拇指”这样的结构不大可能只由某一个基因决定，其发育成形可能是 HOX 基因家族与其他已知或未知基因的共同作用。这些基因在肢端发育过程中可能存在一个精密的时间-空间表达模式。然而，如果要用实验分子生物学手段研究“伪拇指”的发育机制，首先要考虑的就是如何建立恰当的实验平台。熊猫作为标志性的保护物种，不可能像模式实验动物一样进行研究。因而如何建立一个替代性的实验平台就成为研究“伪拇指”乃至其他大熊猫特征所首先要解决的难题。

其次，“伪拇指”是如何进化而来的？一个有趣的现象是，大熊猫和小熊猫是食肉目中仅有的两种以素食（竹子）为主的动物，与这两种动物亲缘关系很近的杂食类的熊科和浣熊科都没有“伪拇指”[2]。现在普遍认为，大熊猫科和熊科有较近的亲缘关系，而小熊猫和浣熊有较近的亲缘关系[1,2]。这些现象提示我们两点，第一，大熊猫和小熊猫的“伪拇指”可能不是单起源的；第二，多起源的“伪拇指”很可能是与食性适应有密切关系的趋同进化特征。

现代分子进化理论认为，生物进化在分子水平主要是由中性和近中性驱动的，选择和适应则主要在宏观水平上起作用[8,9]。这就带来一个问题，“伪拇指”这样与适应明显相关的性状，其产生的分子机制是什么？这样一个分子机制在祖先的熊猫群体中是如何通过选择和适应得以固定下来的？这是一个在进化生物学上有重要理论意义的有趣问题。目前关于适应性分子进化的分析主要是通过对蛋白编码DNA序列上同义和非同义替代速率的比较[10]，而对多个基因间相互作用关系的适应进化研究尚处在起步阶段[11]。因此，关于“伪拇指”的研究还有相当多的难题有待解决。

参 考 文 献

［1］ 北京动物园．大熊猫解剖：系统解剖和器官组织学．北京：科学出版社，1986

［2］ 胡锦矗．哺乳动物学．北京：中国教育文化出版社，2007

［3］ Bastida FM，Ros MA. How do we get a perfect complement of digits? Curr Opin Genet Dev，2008，18：374-380

［4］ Capdevila J，Izpisúa-Belmonte JC. Patterning mechanisms controlling Vertebrate limb development. Annu Rev Cell Dev Biol，2001，17：87-132

［5］ Cohn MJ，Izpisúa-Belmonte JC，Abud H，et al. Fibroblast growth factors induce additional limb development from the flank of chick embryos. Cell，1995，80：739-746

［6］ Zúñiga A，Haramis AP，McMahon AP，et al. Signal relay by BMP antagonism controls the SHH/FGF4 feedback loop in vertebrate limb buds. Nature，1999，401：598-602

［7］ Randy L，Johnson RL. Molecular Models for Vertebrate Limb Development. Cell，1997，90：979-990

［8］ Kimura M. Evolutionary rate at the molecular level. Nature，1968，217：624-626

［9］ Ohta T. The nearly neutral theory of molecular evolution. Annu Rev Ecol Syst，1992，23：263-286

［10］ Nielsen R. Molecular Signatures of Natural Selection. Annu Rev Genet，2005，39：197-218

［11］ Li S，Armstrong CM，Bertin N，et al. A Map of the Interactome Network of the Metazoan C. elegans. Science，2004，303：540-543

撰稿人：吴　琦　魏辅文

中国科学院动物研究所

审稿人：杨　光

遗传、细胞及发育生物学

为什么地球上所有生物都用同一套遗传密码？

Why Is the Same Genetic Code Utilized for All Organisms on the Earth?

目前已知地球上的生命基本上都使用同一套遗传密码，称为标准遗传密码（canonical genetic code）。它揭示了四种核苷酸序列的组合（组成遗传物质核糖核酸或RNA和脱氧核糖核酸或DNA）与二十种氨基酸（组成蛋白质分子）之间的对应关系。基因的核苷酸序列信息是以三个连续核苷酸为信息单元（又称为三联体密码子或codon），由信使RNA（messenger RNA或mRNA）的核苷酸序列来携带。遗传密码的解码过程是由核糖体和带有与密码子相对应氨基酸残基的转运RNA（transfer RNA或tRNA）来完成的，因此mRNA、携带氨基酸的tRNA和核糖体共同组成了遗传密码的解码（或称蛋白质的生物合成）机器，从而依据遗传密码而合成各种蛋白质分子，完成从信息到功能的转移。

遗传密码的起源和同一化（标准化）迄今仍然是一个未解的科学难题，但我们预期它一定在生命起源的某一个阶段产生。并且就像我们相信生命是从无机到有机、由单纯到复杂逐渐进化而来一样，没有理由怀疑遗传密码不是经过逐渐演变而形成的[1]。它更不太可能是瞬间固定，即所谓的“意外冻结”假说[2]，而是在尽用编码能力后达到一种相对永久的平衡。

遗传密码的构成要素（如DNA序列、mRNA序列、密码子、反义密码子、氨基酸序列、氨酰tRNA和蛋白质序列）之间有三个基本关系。第一个关系是密码子与反义密码子的对应关系，反映了RNA-RNA之间的直接相互作用。密码子被DNA所携带，由mRNA来传递，再通过氨酰tRNA上的反义密码子和核糖体共同识别。产生这个关系的分子基础，显然在RNA世界里就应该有个雏形，形成RNA-RNA的相互识别和作用关系。其实，真正的密码翻译是由氨酰tRNA合成酶来完成的，这类酶不仅识别特定tRNA上的识别要素（identity element），也识别与其匹配的特定氨基酸，但又不完全靠识别反义密码子（至少有3/20不是）。也就是说，人们可以通过改变反义密码子的核苷酸序列和碱基的修饰，使tRNA核苷酸-氨基酸的关系在体内（细胞内）发生有限改变[3]。这就是遗传密码所具备的第二个关系，有可能在RNA-蛋白质世界里就有了氨酰tRNA合成酶和底物tRNA关系的雏形。遗传密码的第三个关系是氨基酸之间的特定的物理化学性质，它们之间既有不同也有相同，构成一个复杂的关系，所以引起很多推测[4]。遗传密码共编码20个氨基酸，它们之间有着密切的相关性但又有各自不同，比如疏水性、极

性、电复性、残基的体积等。这些复杂的关系其实可以在遗传密码表的正确排列中窥出端倪[5]。

生命起源要具备三个最基本的要素：构成生命的生物大分子“部件”，为“部件”提供原料和动力的“原始汤”，以及将生命个体物理性隔离而形成原初细胞的生物膜。首先我们来探讨生命大分子的起源问题。生命大分子主要指核酸、蛋白质和多糖。蛋白质和多糖都不能单独作为生命起源的原初物质，而目前广为接受的是所谓的“RNA 世界”假说[6]。其根本原因是科学家发现了 RNA 具有生物酶活性或操作性（operational characteristic）。在 RNA 世界里，生命的原初形式应该已经存在，也就是说原始汤和生物膜的原初形式也应该存在，并可以支持 RNA 所构成生命单元的基本生命活动。然而，由于 RNA 既行使信息功能也行使执行功能，RNA 分子不断受到修改（修饰和校正）、选择（自身的生存）和掠夺（被其他个体所吞噬），所以很难具有稳定的遗传性，所以每个个体都可能是不一样的，基本不具备遗传密码稳定存在的条件。尽管在我们设想的 RNA 世界后期，产生了蛋白质的合成机器的原件，但是在 RNA-蛋白质世界里，遗传密码应该还处于原始状态，遗传密码本身应该是在 DNA 世界里才被最终固定。这时，DNA 的复制机制产生，DNA 取代了 RNA 作为遗传物质的载体，遗传信息的传递被稳定化，遗传密码才有被固定的可能。其次是原始汤和细胞膜的问题。在 RNA 世界里，细胞膜就应该产生，但是功能简单，细胞内外的原始汤从均一到不同的变化要依赖多糖和蛋白质的不断参与。在 RNA-蛋白质世界里，原始汤趋于复杂，细胞膜的功能发生了质的飞跃，细胞质产生，生命体的化学复杂性增加。因此，RNA 世界和 RNA-蛋白质世界里的原始汤应该会支持蛋白质的合成，吸收和富集种种氨基酸和核苷酸的前体[7]。DNA 复制的发生和进化应该是遗传密码被固定的最关键环节，是在生命已经具有一定的复杂性后才产生的，比如细胞质可以以原始汤为前体合成脱氧核糖核酸，即 DNA 的化学前体。其次是基于 DNA 模板的 mRNA 转录。

关于遗传密码的同一化目前还没有一个具有主导地位的假说。不过同一化的途径是有限的，这里仅举几个例子。第一，地球上生命的三界（真细菌、古细菌和真核生物[8]）共享同一个属于 DNA 世界的先祖原核细胞，或称为最后的共同祖先（last universal common ancestor，LUCA）。再由原核到真核进化，而遗传密码就是在这个原核生物先祖细胞里形成，又分别在进化过程中被生物的各界保留[9]。第二，生物三界共享一个“先祖基因池”（primitive gene pool），由一个“类真核细胞”（eukaryote-like cell）为载体，完成了由 RNA 世界到 RNA-蛋白质世界，再到 DNA 世界的转变，而遗传密码则经历了从简单到复杂的分步进化过程，最后在 DNA 世界被固定，遗传物质的高度稳定性、频繁的基因横向转移和重组、基因组组分的动态变化（如 GC/嘌呤含量的变化和基因组大小增缩）等机制使各界各门生物在地球环境的不断变化中诞生、灭绝和演化。在这个假说里我们生命没有统一

的“根”（the root of life），即没有共同祖先。第三，三界各自独立在原始汤里产生，不断地进化并产生新的物种，也可能全部或部分地经历了 RNA 世界、RNA-蛋白质世界和 DNA 世界，并独立产生同一个遗传密码系统。因为当生命可以独立生存的最小的形式诞生后，它就会独立地去繁衍和进化。

综合各种思想，我们可以得出一些关于遗传密码起源和同一性产生的几个基本共识。首先，遗传密码的产生不应该是一个简单的事件，起码应该是一个分步完成的系列性事件。即使不完全是“基因在先”（gene-first）或“代谢在先”（metabolism-first）的系列性事件，也应该与基因和代谢物都息息相关。因为遗传密码的产生和翻译实际上是一个基因产物和它们底物共同参与的化学过程，大分子和小分子的相互作用取决于参与化学反应分子的浓度，所以很可能会给人以与代谢过程“共同进化”[10]的错觉。其实，遗传密码对氨基酸的最终选定应该是在代谢途径完善后才决定的，因为代谢途径的完善并不需要 DNA 的参与，在 RNA-蛋白质世界里就应该基本形成。其次，遗传密码构成要素之间的密切关联和相互作用是生命形态不断变化的分子基础，遗传密码的高度保守性揭示遗传信息传递体系（机器）的高度复杂性。这个系统的复杂性又促使机器自身分布变迁，进化成在不同的分隔区（如细胞核与细胞质）里行使功能，尽管这种分隔必定要消耗更多的能量，生命还是选择了增加遗传信息的容量、复杂性和可调控性。因此遗传密码的出现使遗传信息传递标准化，从而信息量和复杂性都可以不断增加。第三，遗传密码具有有限的可变性。这些可变性有些是进化过程中的孑遗，有些是新的偶然事件，如同遗传变异与自然选择之间的关系一样，但是这些有限的可变性并没有从根本上改变遗传密码的同一性。第四，我们应该探讨一下自然选择是怎样选择了现在的遗传密码。就 DNA 组分的动态变化来看（主要是 GC 含量的大幅度变化），遗传密码不仅选择了变化性（diversity），也选择了鲁棒性（robustness，稳定性）。就氨基酸在密码表里的排列来看，遗传密码选择了对蛋白质结构变化的抵抗性或称为损伤最小化。因此，我们最后可以结论：遗传密码应该是生命早期经历长期复杂性变迁和自然选择的必然结果，遗传密码的同一性反映了生命进化过程的同一性。

参考文献

［1］ Crick FH. The origin of the genetic code. J Mol Biol，1968，38：367-379

［2］ Santos MAS，Gabriela MG，Massey SE，et al. Driving change：the evolution of alternative genetic codes. Trends in Genet，2004，20：95-102

［3］ Lehmann J. Physico-chemical constraints connected with the coding properties of the genetic system. J Theor Biol，2000，202：129-144

［4］ Xiao JF，Yu J. A scenario on the stepwise evolution of the genetic code. Geno Prot Bioinfo，2007，5：143-151

［5］ Yu J. A content-centric organization of the genetic code. Geno Prot Bioinfo，2007，5：1-6

[6] Gilbert W. The RNA World. Nature，1986，319：618

[7] Lazcano A，Bada JL. The 1953 Stanley L. Miller experiment：Fifty years of prebiotic organic chemistry. Origins of Life and Evolution of Biospheres，2004，33：235-242

[8] Woese CR，Kandler O，Wheelis ML. Towards a natural system of organisms：proposal for the domains Archaea，Bacteria，and Eucarya. Proc Natl Acad Sci USA，1990，87：4576-4579

[9] Knight RD，Freeland SJ，Landweber LF. Selection，history and chemistry：the three faces of the genetic code. Trends Biochem Sci，1999，24：241-247

[10] Wong JT. Role of minimization of chemical distances between amino acids in the evolution of the genetic code. Proc Natl Acad Sci USA，1980，77：1083-1086

撰稿人： 于　军

中国科学院基因组学研究所

审稿人： 杨维才　孙中生

克隆动物安全吗？

Are Cloned Animals Safe?

随着现代学技术的日益进步，克隆动物已经逐渐揭开神秘的面纱，从实验室中走出来，贴近了日常百姓的生活。人们在开始了解和接近克隆动物的同时，始终有一个疑问在心中萦绕：克隆动物究竟是不是正常的动物，它们会不会出现和正常动物不一样的生理特征？而孩子们则在想象，他们会不会变异并成为所谓的怪兽呢？尽管这些问题在科学家们看来，似乎已经有了些初步的答案，但是对于克隆技术未来直接的受益者——寻常百姓而言，仍然需要一个确实而准确的答案。

简而言之，克隆就是无性繁殖，其主要的方式有3种，即胚胎分割、孤雌生殖和细胞核移植，目前通常意义上的克隆动物主要是指借助于细胞核移植技术出生的动物。克隆动物早在1952年就已经在两栖类物种中取得成功[1]。但是在哺乳类物种中，在漫长的36年等待后，丹麦科学家 Willadsen 率先将胚胎细胞核移植到未受精卵成功地获得克隆绵羊[2]。而对于哺乳类体细胞克隆动物（即将成年动物体细胞的细胞核移植到未受精卵中发育而成的动物）而言，直至20世纪末（1997年）“Dolly”羊的出生才宣告成功[3]。此后的10年是哺乳类体细胞克隆动物发展最迅速的时期，出生了包括牛、山羊、猪、小鼠、兔、马、大鼠、骡子、猫、狗、雪貂和狼等其他12种哺乳类体细胞克隆动物。其中每一种动物的克隆成功，都给了未来畜牧业、医药卫生行业、野生动物保护等多个领域带来一缕革新的曙光。

但是遗憾的是，人们在获得体细胞克隆动物的同时，发现克隆动物的出生率比正常受精动物的出生率低很多。而且在出生的克隆动物中，会发现一些异常的生理表型，其中包括出生时体重过重、胎盘过大、围产期高死亡率、心肺功能不全、早衰等。但是令人感兴趣的是，这些异常的表型并不会遗传到克隆动物的子代中，也就是说，这种克隆动物的异常表型并不是遗传的因素导致的，那么又会是什么原因呢？研究人员发现，与正常新生小鼠相比，新生克隆小鼠的胚盘有约4％的基因的表达量表现出明显的不同，其肝脏中也有不少基因的表达量不同，表明克隆动物表型的不同是由于某些基因的表达发生了改变[4]。因此，是不是这种基因的异常表达与基因的修饰有关呢？研究者发现，在细胞移入卵母细胞后，会出现基因组重新修饰，也就是重编程，在这个过程中，基因序列也就是遗传组成不会改变，但是表观遗传，也就是基因组中的染色体甲基化、组蛋白乙酰化与甲基化、染色质结构等都会发生变化，进而启动早期发育所必需的基因，使终末分化的细胞能够恢复到具有全能性的胚胎细胞时期，获得后续的发育潜能。正是这些表观遗传修饰的原因，引

起了基因表达水平的改变，从而导致了克隆动物出现一些异常的表型[5]。这些研究和推测，给克隆动物表型异常提出了部分解释，但其真正原因仍是一个科学难题，留给后人追寻和解决。

但是似乎这些问题并不是人们最关心的，对于社会公众而言，克隆动物的肉是不是和正常动物一样，克隆动物所产的奶和正常动物的有没有差异，才是人们关注的焦点。早在2001年，美国科学家就已经向美国食品药品管理局（FDA）申请将克隆家畜产品推向市场，但是FDA认为，在这种关系到大众餐桌和健康的重大发展，必须要经过严格的认证，以确保其安全性[6]。该机构认为，必须通过两个方面的检测，才能证明克隆动物的安全性。首先，必须从动物本身的发育潜能上进行验证。也就是说，克隆动物是否能够正常地发育、生长和繁殖。其次，需要重点评估克隆动物肉、奶等产品的营养组成，包括肌肉、脂肪酸、蛋白质、氨基酸、各种元素（钠、钙、硫、钾、锌、锶、铁和磷）等重要营养物质的含量以及开展相关的动物实验。在这种指导原则下，克隆家畜已经过了数年的检测，各种指标都被认为与同年龄、同生长环境下正常生产的家畜没有任何差异，完全可以安全地走进人们的日常生活中[7-9]。2008年1月，美国FDA正式宣布，来源于克隆猪、牛和羊的肉、奶产品是安全可靠的，完全可以放心地食用。相继，欧洲食品安全局、日本食品安全委员会也已经宣布了克隆家畜肉、奶产品的安全性。

至此，“克隆动物的安全性”问题似乎有了答案，但仍然有科学家对FDA等部门的决定提出质疑，认为克隆动物安全性评估的方法不能仅仅局限于美国FDA提出的方法，必须扩大样本量，扩大检测的全面性，才能真正对克隆动物的安全性给予明确的答案[10]。作为一个人口处于世界第一位的农业大国，克隆动物，特别是克隆家畜的安全性对于我国未来的经济发展与人口健康等都具有重要的意义，因此必须结合我国的国情，同时借鉴其他国家和地区有益的研究成果，进行系统的研究与全面评估（特别是长期评估），给克隆动物安全性一个完整的答案。

参 考 文 献

[1] Briggs R，King TJ. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. Proc Natl Acad Sci U S A，1952，38：455-463

[2] Willadsen SM. Nuclear transplantation in sheep embryos. Nature，1986，320：63-65

[3] Wilmut I，Schnieke AE，McWhir J，et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature，1997，385：810-813

[4] Humpherys D，Eggan K，Akutsu H，et al. Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei. Proc Natl Acad Sci U S A，2002，99：12 889-12 894

[5] Eggan K，Akutsu H，Loring J，et al. Hybrid vigor，fetal overgrowth，and viability of mice derived by nuclear cloning and tetraploid embryo complementation. Proc Natl Acad Sci

U S A，2001，98：6209-6214

[6] Rudenko L，Matheson JC，Sundlof SF. Animal cloning and the FDA——the risk assessment paradigm under public scrutiny. Nat Biotechnol，2007，25：39-43

[7] Yang X，Tian XC，Kubota C，et al. Risk assessment of meat and milk from cloned animals. Nat Biotechnol，2007，25：77-83

[8] Fox JL. Cloned animals deemed safe to eat，but labeling issues loom. Nat Biotechnol，2008，26：249-250

[9] Tian XC，Kubota C，Sakashita K，et al. Meat and milk compositions of bovine clones. Proc Natl Acad Sci U S A，2005，102：6261-6266

[10] Heyman Y，Chavatte-Palmer P，Fromentin G，et al. Quality and safety of bovine clones and their products. Animal，2007，1：963-972

撰稿人：周　琪

中国科学院动物研究所

审稿人：孟安明　朱作言

转基因动植物安全吗？

Are Transgenic Animals and Plants Safe?

地球，一颗蔚蓝色的星球，数亿年的演化、变迁，不仅孕育了广袤的陆地和海洋，更创造出了丰富而神奇的生物。曾几何时，当人类面对着这些千姿百态、丰富异常的生物时，却是那样的懵懂和幼稚。然而，人类认识世界的脚步却从未停歇，从远古的图腾，到农耕文化的形成，畜禽的驯化，再到达尔文的进化论，知识与技能的积累不断拉近着我们与自然界的距离。终于，当历史跨入20世纪，神奇的双螺旋为我们叩开了基因工程研究的大门，人类终于可以从分子水平去认识并改造周围的生物，服务于人类的生活。

1953年，年仅25岁的詹姆斯·沃森和37岁的弗朗西斯·克里克从DNA（脱氧核糖核酸）的X射线衍射图上解读了它的双螺旋结构，这标志着人类从此进入分子生物学阶段[1]。在此基础上，诞生并发展出了一个新兴的技术领域——生物技术，基因工程技术就是这一领域的核心，利用基因工程技术改变基因组构成而形成的动物、植物、微生物及其产品被称之为转基因生物或转基因生物产品。

这一领域虽然只有短短几十年的研究历史，却发展迅猛。1982年，美国科学家使用显微注射技术将外源的大鼠生长激素基因导入小鼠的生殖细胞，发育成的转基因小鼠比对照鼠要大2倍，被称为“超级鼠”[2]，这是世界上首例转基因动物模型。相比而言，转基因植物的研究和应用则更加迅猛。1983年首例转基因植物——抗病毒转基因烟草问世，1986年全世界有5例转基因植物首次获准进入田间试验，1994年首例转基因植物——转基因耐储藏番茄在美国批准进入市场。近几年，随着现代生物技术的发展和成熟，转基因作物的种植面积越来越大，转基因生物的种类越来越多，预计转基因作物的产值将由1999年的30亿美元上升到2010年的30 000亿美元。在不远的未来，利用转基因技术生产出的能产生人乳铁蛋白的转基因山羊、具有高叶酸含量的转基因西红柿等种类繁多的转基因产品都将极大地提升人类的生活品质[3]。

然而，转基因技术作为一种高尖端的现代生物技术，在为现代人类社会作出巨大贡献的同时，其本身也存在着许多问题，生物安全性就是其中最主要的问题之一。首先，无论是转基因植物，还是转基因动物，只要为人类所食用，就存在着“外来基因”进入人体内部所带来的不确定的风险[4]。我们知道，人体自身的免疫系统对各种外来生物侵袭具有特异性和非特异性的抵御能力。但如果转基因的产品被食用，那么外来的基因就有可能利用人体内的“资源”（如肠道微生物）进行自

身的复制、或者翻译表达出外源蛋白质，或者插入微生物基因组而影响其基因组的稳定性。事实上，外来 DNA 每天都通过食物或呼吸（如空气中的病原微生物）进入人体内，但迄今未见报道这些外源 DNA 能够整合到人类或人体内的肠道微生物基因组中。不管怎样，转基因产品的食用，其潜在的风险性是不能被忽略的。其次，是其在医疗应用上的风险性。随着人类社会的发展，人们的生活水平不断提高，但是新的疾病也不断涌现，而且传统的医疗方法对一些新的疑难病症已经束手无策，如帕金森病、糖尿病等[5]，所以人们也在努力寻找新的、更有效的方法来治疗这些疾病，转基因治疗就是其中之一。这些病症的产生，大多是因为一个或几个主要蛋白质的功能缺失，或者是能合成该功能蛋白质的细胞减少，由此产生疾病，而基因治疗的目的就是想通过基因的外源导入，使机体重新获得合成缺失蛋白质的能力，从而治愈疾病。虽然其简单、直接，但也存在着一定风险。先撇开基因能否正确靶向的问题不说，由于病毒（主要是反转录病毒载体）为主要介导载体，外源基因有随机插入人体基因组的可能性。这种随机插入可能会给人体带来负面的影响，如抑癌基因的失活等。所以转基因的治疗在医学领域还有很多问题需要解决。

转基因植物所产生的具杀虫、抗虫等特性的物质，也可能对环境中的其他有益生物的生存产生破坏性影响。再者，转基因植物所携带的外源基因可能会通过花粉传播给其野生型或其他植物物种，从而造成“基因污染”；与此同时，发生重组的基因有可能导致出乎意料的结果，产生有害的新型生物，导致生态平衡被打破。

那么，在面对转基因动植物这柄“双刃剑”的时候，人类是否应该停滞不前呢？回答当然是否定的。目前世界各国都在着手应对转基因动植物所带来的安全性问题。1976 年，世界上第一个实验室基因工程法规在美国诞生。此后，英国、德国、法国等 20 几个国家也根据自身的国情制定和颁布了相应的法律法规，用以规范转基因动植物的研究与应用。世界卫生组织、世界粮农组织、联合国环境规划署等国际性组织也都纷纷制定了各自的生物安全规划或技术准则，大量国际性公约、文件的签署也必将成为未来规范转基因动植物研究与生产的有效手段。我们国家也将转基因动植物的安全性重要问题提上了议程，并结合自身国情和转基因技术的研究现状，于 1993 年 12 月发布了《基因工程安全管理办法》，要求转基因生物在应用之前要进行安全性评价。农业部还专门成立了农业生物工程安全管理办公室和生物基因工程安全委员会，并实施了《农业生物基因工程安全管理办法》。与此同时，各大院校、生物公司及研究机构也开始更加系统地对自己研发的转基因动植物产品进行安全性评估[6]。

任何一项新技术、新理论的诞生和发展都必将伴随着争议，以及来自各个方面的压力，这是科学技术发展的必然规律。转基因动植物作为 20 世纪诞生的新兴技术，当然也不例外。在面对种种非议、怀疑，甚至是反对的声音时，科学家们并没有退缩，反而更加积极地投身其中，遇到问题，解决问题，才是获得认可的唯一途

径，也是转基因动植物应用的必由之路。2000 年 1 月，美国科学家起草了一份“支持农业生物技术的声明”，来自世界各国的 3000 多位科学家在这份声明上签了字。声明指出：“通过重组 DNA 技术引入新基因并不一定会产生新的或更大的风险，而且商品安全性也由于目前的安全管理规则而得到了更进一步的保障，因而为作物的改进提供了更大的灵活性和精确性。”自 20 世纪 80 年代以来，我国启动的“863”、“973”等相关的科学研究计划，都把转基因动植物的安全性问题摆在了重要位置。

就目前而言，转基因技术还不够成熟，存在着诸多风险，科学家们正在设法提高转基因技术和产品的安全性。例如，通过去除起源于微生物的载体 DNA 序列，可以防止外源 DNA 上基因的表达和横向转移；使转基因定向插入到目标生物基因组的无害位置，可以避免转基因随机插入对目标生物重要基因的破坏。总之，转基因技术向我们展示了光明的、充满希望的应用前景。科学家们有能力完善转基因技术，使其能最大限度地造福人类。

参 考 文 献

[1] Watson JD，Crick FH. Molecular structure of nucleic acids：a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature，1953，171：737-738

[2] Palmiter RD，et al. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. Nature，1982，300：611-615

[3] Diaz de la Garza RI，Gregory JF 3rd，Hanson AD. Folate biofortification of tomato fruit. Proc Natl Acad Sci U S A，2007，104：4218-4222

[4] Sadelain M. Insertional oncogenesis in gene therapy：how much of a risk? Gene Ther，2004，11：569-573

[5] Burton EA，Glorioso JC，Fink DJ. Gene therapy progress and prospects：Parkinson's disease. Gene Ther，2003，10：1721-1727

[6] 李方远 . 充满希望的转基因生物研究 . 农业与技术，2006，26：74-76

撰稿人：周　琪
中国科学院动物研究所
审稿人：孟安明　杨维才

衰老是受遗传控制的吗?

Is Ageing Genetically Controlled?

衰老（ageing）又称老化（senescence），通常是指随年龄增加，自身机能减退，内环境稳定能力与应激能力下降，组织器官功能明显衰退等不可逆转变化的现象[1]，衰老的终点是死亡。对于群体而言，衰老开始的时间一般是指死亡率显著上升的年龄。

对衰老机制的研究一直是医学领域的热门课题，衰老还被列为 21 世纪生物学研究的八大方向之一。衰老机理研究可为延缓衰老提供理论和实验依据，并为阐明老年病发病机理提供线索。随着社会的发展，科学技术的进步和物质生活水平的提高，人们愈来愈重视延缓衰老的重要性和可行性。

关于衰老的研究可追溯至公元前。但那时的研究手段原始粗糙，其目的着眼于延年益寿。20 世纪初，Nascher 倡导使用“geriatrics”一词以体现老年病学；衰老研究从 40 年代起逐渐系统化，研究内容包括从形态，生理功能、物质代谢方面探索衰老的变化规律，进而探讨衰老原因。近几十年来，随着一些新兴学科的飞速发展，人类对于衰老的认识也从整体动物水平推进到了细胞和分子水平，在大量实验证据的基础上提出了许多学说，如遗传控制学说、自由基损伤学说、代谢产物交联学说、体细胞突变学说、线粒体 DNA 损伤学说、微量元素学说、端粒缩短学说等不下数百种；但这些学说最终归结为两大类型：一类为环境伤害衰老理论，另一类为遗传衰老理论。

遗传衰老理论认为生物体的衰老与基因的调控有关。不同种类的生物寿命差异很大，同一种群不同个体之间的寿命差异也很大，并且这种差异有遗传倾向。引起衰老的原因是真核细胞基因的随机改变，这些改变包括：①在生物个体的一生中，随机的基因突变位点不断积聚，最终导致细胞功能的丧失和死亡；②与年龄相关的大规模 DNA 重组，包括染色体数目、结构的改变、端粒的缩短、rDNA 的丢失等。模式生物在帮助科学家理解遗传因素对人类衰老过程的影响中起着至关重要的作用。在利用模式生物研究衰老机制的过程中，发现了一些衰老相关基因，为衰老的基因控制理论提供了证据。自 Klass 首次分离出线虫长寿基因突变体以来，利用动物模型研究衰老机制已发现了许多与衰老相关的基因（表 1）[2]。

表 1　从模式生物中克隆的衰老相关基因

丝状真菌	酵母	线虫	果蝇	小鼠
grisea	*lag 1*	*daf-2*	*sod 1*	*Prop-1*
	lac 1	*age-1 /daf-23*	*cat 1*	*p66shc*
	ras 1	*daf-18*	*mth*	*Klotho*
	ras 2	*akt-1 /akt-2*	*indy*	*Wrn*
	phb 1	*daf-16*		*Ku 80*
	phb 2	*daf-12*		*mTOR*
	cdc 7	*ctl-1*		*Xpd*
	bud 1	*old-1*		*Ercc 1*
	rtg 2	*spe-26*		*CSAPCSB*
	rpd 3	*clk-1*		*p 53*
	hda 1	*mev-1*		*FIR*
	sir 2			*IGF-1*
	sir 4 -42			*FOXO 3*
	uth 4			*GH*
	ygl 023			
	sgs 1			
	rad 52			
	fob 1			

许多研究显示，抑制生长激素/胰岛素样生长因子（IGF-1）信号通路可以显著延长无脊椎动物和脊椎动物的寿命[3]。Ames 侏儒小鼠（*Prop-1*）垂体发育有缺陷，导致生长激素合成减少，这种小鼠个体很小，但寿命却很长。线虫、果蝇和小鼠中的研究均显示，胰岛素或者 IGF-1 胞内信号通路的减弱能够使寿命延长。例如，敲除线虫胰岛素受体样基因 *daf-2* 基因可延长寿命，并导致代谢的改变，包括脂质和糖原的堆积。Klotho 蛋白能与胰岛素和 IGF-1 胞内信号转导分子结合，并抑制该信号通路。Klotho 基因敲除导致小鼠寿命缩短和衰老相关的生理失调，而过表达 Klotho 转基因小鼠能够明显地延长寿命。通过对酵母的研究发现，*ras 2* 基因通过调节细胞内从线粒体到细胞核的信号转导通路来维持自我平衡，在酵母的寿命延长中起重要作用。Ras/cAMP/PKA 通路活性降低的酵母突变体均能导致寿命延长。编码与 c-H-ras1 的信号转导有关信号分子 p66shc的基因突变，导致细胞凋亡的明显减少和氧化应激抵抗力的显著增加，小鼠的平均寿命增加 30%，而小鼠的大小没有明显变化。

大多数生物学过程在长期的进化过程中是高度保守的，因此许多生物学过程在大多数或所有的模式生物中都是类似的，衰老也不例外[4]。然而，随着生物复杂性的增加以及生理状态的显著改变，高等模式生物对衰老的调控机制以及对干预措施

的反应性与简单模式生物明显不同[5]。从线虫、果蝇等研究成果看，长寿物种常伴有丰富的超氧化物歧化酶（SOD）及过氧化氢酶，超氧化物歧化酶和过氧化氢酶双转基因果蝇的平均寿命延长1/3。而人的超氧化物歧化酶基因定位于21号染色体q22.1，某些先天愚型患者常有三条21号染色体，因此他们的SOD基因比正常人多一个拷贝，但未见其寿命长于常人；SOD转基因鼠也并未长寿。因此，在模式生物中的发现是否具有临床意义，仍然需要人类遗传学研究的证实。对百岁老人及其同胞的研究显示，人类的极端长寿是受遗传控制的。20世纪90年代后，人类病理性衰老相关基因的研究相继取得了一些重要进展。Werner早老综合征是一种隐性遗传病，病人的DNA损伤修复、转录等都有异常表现，其细胞体外可传代数亦远低于同龄人。该综合征是位于8号染色体短臂的一种DNA解旋酶基因突变所致。在细胞衰老中，9号染色体短臂的 *p16* 基因和染色体端粒长度可能起关键作用。能减弱胰岛素/IGF-1的基因变异被发现确实与长寿相关[6]。此外，某些老年性疾病的研究亦为阐明人体衰老过程不断演进的物质基础、阐明衰老相关的级联反应指出了方向。衰老时人体机能下降，包括对疾病的易感性增强[7]。所以从这一角度看，某些老年病相关基因亦可看作衰老基因。例如载脂蛋白E4水平升高时，发生冠状动脉粥样硬化性心脏病与老年性痴呆的可能性增高，由此影响寿命。衰老并非单一基因决定，可能涉及许多基因组成的基因群。随着遗传流行病学的开展，越来越多的与衰老和长寿相关的基因被发现，遗传控制衰老的理论越来越被大家认可[8]。鉴于衰老是一个复杂的过程，是很多因素共同作用的结果，目前遗传控制衰老理论还不能解释所有的衰老现象[9,10]。此外，人类对衰老发展过程的遗传调控机制仍然知之甚少。鉴于目前尚未获得国际上公认与正常人整体衰老直接相关的基因，因而寻找衰老基因的工作任重道远，尚需从多角度、多途径进行探索。只有真正彻底理解衰老及其相关疾病的遗传调控机理和分子机制，才有可能发展出增进健康、延年益寿的有效方法。

参 考 文 献

[1] Hwang E，Yoon G，Kang H. A comparative analysis of the cell biology of senescence and aging. Cell Mol Life Sci，2009，66：2503-2524

[2] Vijg J，Suh Y. Genetics of longevity and aging. Annu Rev Med，2005，56：193-212

[3] Berryman D，Christiansen J，Johannsson G，et al. Role of the GH/IGF-1 axis in lifespan and healthspan：Lessons from animal models. Growth Hormone & IGF Research，2008，18：455-471

[4] Bishop N，Guarente L. Genetic links between diet and lifespan：shared mechanisms from yeast to humans. Nature Reviews in Genetics，2007，8：835-844

[5] Vijg J，Campisi J. Puzzles，promises and a cure for ageing. Nature，2008，454：1065-1071

[6] Suh Y，Atzmon G，Cho M，et al. Functionally significant insulin-like growth factor I re-

ceptor mutations in centenarians. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：3438-3442

[7] Beausejour C，Campisi J. Ageing-balancing regeneration and cancer. Nature，2006，443：404-405

[8] Fallin M，Matteini A. Genetic epidemiology in aging research. J Gerontol A Biol Sci Med Sci，2009，64：47-60

[9] 童坦君，张宗玉．衰老机制及其学说．生理科学进展，2007，38：14-18

[10] Ljubuncic P， Reznick AZ. The evolutionary theories of aging revisited-a mini-review. Gerontology. 2009，55：205-216

撰稿人： 王友亮　杨　晓

军事医学科学院生物工程研究所

审稿人： 孟安明　谭　铮　孙中生

人类性别是如何决定的？

How the Human Sex Is Determined？

自然界的生物，特别是高等生物，在长期的演化过程中，基本都形成了以两性形式来繁衍后代的机制。种群内两种性别的分化，保证了父母的遗传物质基本均等地传给下一代。性别决定是胚胎发生中一个关键的细胞分化发育过程。性别可以在几个水平上进行认识：社会性别、临床性别、性染色体和性别基因等。人性别发育异常可带来可怕的断种危机。然而，人的性别是如何决定的，又是如何分化发育的？性别的演化方向是什么？近百年来的科学探索，虽然取得了较大进展，但至今仍然未解，这一直是生命科学中的一个重要科学难题。

人的不育与性分化障碍正在成为危害人类健康和生活的全球性重大医学问题。包括中国在内，全球该类疾病的发病率高达10%～15%，一些国家如丹麦，发病率甚至高达20%。它已经成为危害人类健康的重大疾病，引起了国内外学术界、政府机构和社会的高度重视。然而，对不育与性分化障碍的发病机制至今仍然没有得到充分认识。对该类疾病的防治仍然缺乏有效的技术手段。

人的性别决定类型为XY型，男性为异配即XY性染色体组成，女性为同配XX型。Y染色体在性别决定中起中心作用。位于该染色体上的*SRY*基因（sex-determining region Y）是其关键基因，同时，X染色体和常染色体也起着重要作用。科学家对Y染色体及其*SRY*基因的认识经历了漫长的历程（图1）。自1959年确定Y染色体在男性决定中的中心作用之后，科学家一直致力于寻找其上的性别决定关键基因，历经三十余年才寻找到Y染色体短臂上的*SRY*基因。1991年成功培育出XX性染色体组成的*SRY*转基因雄性小鼠[1]，从而基本确立决定男性性别的关键基因就是*SRY*。

然而，近二十年来的研究表明，性别决定不仅仅依靠于*SRY*基因，它是涉及时空演化中多个基因的复杂调控过程。目前对参与性别决定过程的基因还没有完全认识清楚，究竟哪些以及有多少基因参与性别决定过程尚在探索之中。研究表明，*SRY*基因仅存在于哺乳类并在性别决定中具有中心的决定作用，但还需要其他基因的参与，以共同决定正常性别的完整发育。这些基因包括*SOX 9*、*DMRT 1*、*DAX 1*、*FGF 9*、*SF 1*、*MIS*、*WT 1*和*R-spondin 1*等[3-5]，它们形成了一个信号调节网络。虽然现在还没有完整地绘出最终的调控网络图，但是，我们已经知道了这种发育过程中基因活动的主线条。同时，由于哺乳类以外的其他脊椎动物缺乏*SRY*基因，这些物种的性别决定则是由其他基因完成的，如*SOX 9*基因等。

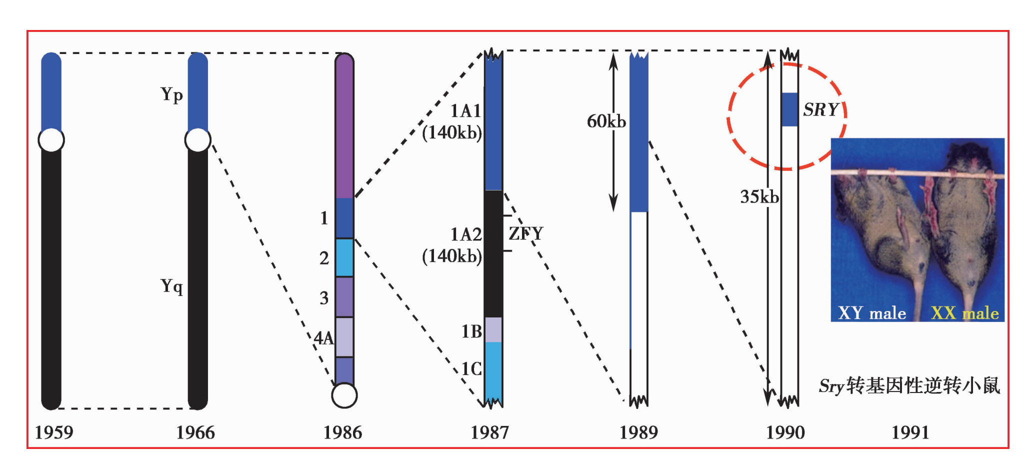


图 1　寻找性别决定基因的艰难历程

人类在地球上生存，我们的未来如何，也一直是人人关心的热点问题，而且至今没有得到清晰的答案。其实人类生存的实质和核心问题就是生殖问题。如果没有生殖或者生殖出现了紊乱，人类就不能繁衍后代，那样人类自然会从地球上消失。男和女两性生殖，两性结合，才有后代。如果缺乏这两个基本生殖要素，人类的未来将面临挑战。X 和 Y 染色体在演化的早期是一样大小，但在演化过程中，性分化基因集中向 Y 染色体聚集，其上大多数基因丢失了，使得现代的 Y 染色体变得非常短小，与 X 染色体比起来像一个沧桑的老人，有学术观点支持 Y 染色体正在走向终结。正是 X 和 Y 性染色体这种差异使得两性分化。然而，Y 染色体上基因丢失一方面使我们获得两性的分化，但是另一方面，Y 染色体上基因丢失的倾向却带来了我们不希望看到的严重后果：这就是性分化障碍的发生和群体性别比的失调[6]。

在 3 亿年前 X、Y 染色体本来是大小一样，演化过程中 Y 染色体 DNA 逐步丢失，到最近的人类，Y 染色体上的基因已经由原来的约 1500 个减少到现在不足 80 个。其速度约为每百万年丢失 4～5 个基因。按照这个速度，Y 染色体上剩余的基因大约经历 5～10 个百万年，几乎将全部消失。没有 Y 染色体，人类的两性生殖将面临挑战，将可能出现我们目前无法想象的、严重的后果。当然这只是预测，生命在演化过程中可能存在保护措施，包括 Y 染色体 DNA 形成特殊的回纹结构等可能起到一定的保护作用。不过，我们更应该关注的是，Y 染色体基因丢失的后果是什么？Y 染色体 DNA 的丢失，的确伴随着有用基因和功能基因的丢失，引起不育等男性生殖疾病，另一方面，为什么生物群体总只有两个性别呢？因为只有两个性别，遇到异性对方的几率就有一半，也就是 1/2；如果偏离这个几率，个体在寻找异性对方的几率就会降低，从而使个体获得繁衍后代会付出更大的代价。演化的结

果赋予了一个生物群体或物种中雄雌各半的比例。如果这个性别比例被打破，无论是人类群体还是其他物种群体，都将是个不稳定的群体。特别是对高等的人类来说，男性与女性的比例 1∶1，群体才能稳定。如果出现了偏差，人类群体肯定将面临生存危机。我们人类目前的性别比例是，100 个女孩出生就有 106 个男性出生。这意味着以 100 人为单位将多出 6 个男性。这个比例远远偏离孟德尔理论值（1∶1）。这导致人类群体的不稳定（图 2）。产生人类性别比例失调的原因至今仍然没有研究清楚。

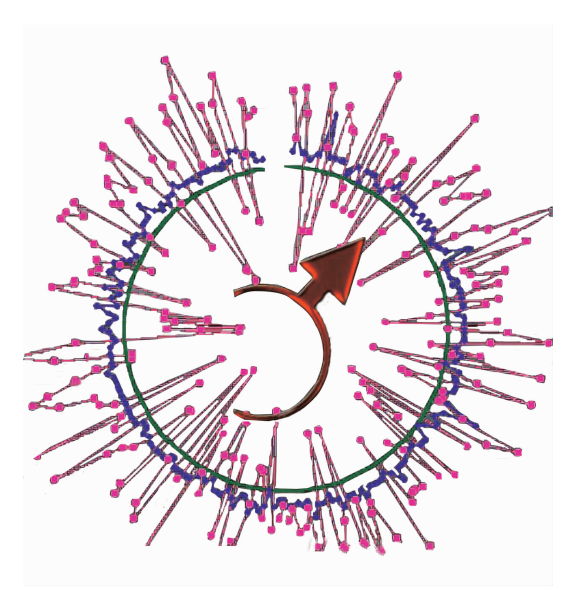


图 2　人类性别比偏离孟德尔定律[6]

在人类漫长的演化历程中，男女两性获得了分化，然而现在人类的后代性别比偏离了孟德尔理论值。图中红色是全球各国人口数，蓝色是相应国家的出生人口性比，绿色是孟德尔理论值

人类演化会采取什么措施来维持性别稳定呢？设想可能发生的战略转移，如果 *SRY* 基因丢失，人类需要不惜代价选择其他基因来控制性别的决定和分化。如果 Y 染色体上性别决定基因 *SRY* 丢了怎么办？最好和最保险的方式就是选用最保守的候补基因。在脊椎动物，包括人类基因组中存在另外一个可能的性别决定的系统，那就是位于常染色体上的 *DMRT 1* 基因。人类如果选择这个新的性别决定系统，将会付出什么代价？如果未来出现男性消失的可怕结局，那么顽强的人类只有通过巨变来使自己在地球上生存和繁衍下去。人类性别比例调整是个渐进的过程，未来如何走向，我们无法知晓。然而，我们可以预测，未来人类必须通过生殖机理和生殖模式的改变来适应在地球上的生存。

参 考 文 献

[1] Koopman P，Gubbay J，Vivian N，et al. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. Nature，1991，351：117-121

[2] Capel B. R-spondin1 tips the balance in sex determination. Nat Genet，2006，38：1233-1234

[3] Raymond CS，Murphy MW，O' Sullivan MG，et al. Dmrt1，a gene related to worm and fly sexual regulators，is required for mammalian testis differentiation. Genes Dev，2000，14：2587-2595

[4] Sinclair AH，Berta P，Palmer MS，et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature，1990，346：240-244

[5] Wallis MC，Waters PD，Graves JA. Sex determination in mammals—before and after the evolution of *SRY*. Cell Mol Life Sci，2008，65：3182-3195

[6] Cheng H，Shang X，He Y，et al. Insight into human sex ratio imbalance：the more boys born，the more infertile men. Reprod BioMed. Online，2007，15：487-494

撰稿人：周荣家

武汉大学

审稿人：朱作言　孙青原

获得性遗传是否存在？

Inheritance of Acquired Behavior

环境对生命个体的影响能否在其下一代表现出来，此谓“获得性遗传”问题。自拉马克提出获得性遗传假说之后，获得性状是否能够遗传，一直是生命科学领域争论的焦点。表观遗传学（epigenetics）的兴起为获得性遗传提供了一定的支持和诠释。“表观遗传学”是与“遗传学”相对应的概念，是在研究与经典孟德尔定律不相符的许多生命现象过程中逐步发展起来的。简单地说，表观遗传学就是研究未涉及DNA序列改变又可通过细胞有丝分裂或减数分裂传代的基因功能的改变，DNA甲基化、组蛋白修饰、基因组印记、染色质重塑、RNA干扰等都属于表观遗传学的研究范畴，其任一异常都将影响基因表达[1,2]。近几年的一些研究揭示了表观遗传调控受到饮食、营养、物理化学、社会心理等环境因素的影响[3]，在肿瘤、糖尿病、精神及神经系统疾病等复杂疾病的发生发展中起重要作用；另外，表观遗传调控机制可以稳定传代，在动植物抗逆、杂种优势形成方面起重要作用[4]。而性状的后天可获得性和可遗传性恰恰是拉马克获得性遗传的核心内容。从某种意义上可以说：表观遗传学作为研究环境和基因相互作用的一个突破口，为获得性性状的遗传提供了一个分子层面的理论着脚点。

性状能否后天获得是获得性遗传假说能否成立的前提。在个体水平，表观遗传的过程是高度动态化的，即具有组织特异性，受发育调控，会被环境所影响，另外，一些随机因素也会影响到表观基因组[5]。动态的、近乎天文数字的表观基因组谱式为后天性状的获得提供了一种可能。说明该种现象的一个直接证据是早期生活事件对个体会产生长期的表观遗传效应。在大鼠中，一些雌鼠表现出很好的育婴行为（high-LG-ABN），而另有一些大鼠这类行为较少（low-LG-ABN），high-LG-ABN雌鼠的后代表现出较少的焦虑行为，海马区糖皮质激素受体（glucocorticoid receptor，GR）mRNA和蛋白质的表达更多；通过对两种雌鼠后代$GR1_7$启动子区一些CpG位点甲基化状态的比较，发现low-LG-ABN雌鼠的后代在这些位点上甲基化程度更高[6]，并且甲基化状态的这种差异出现于出生后第一周，并一直持续到成年；low-LG-ABN母鼠的后代由于$GR\,1_7$启动子区的甲基化阻止了转录增强子NGFI-A的结合，从而干扰了*GR*基因的正常转录调节。该研究提示，环境刺激会导致表观基因组的长久变化，为性状的后天性获得提供了理论依据。

后天获得的性状是否能够稳定传代是获得性遗传假说能否成立的关键所在。Jablonka 等曾综述了上百个有详细记录的关于代间表观遗传传递的例子，揭示了病毒、细菌、真菌、植物、动物等各种生物表观遗传代间传递现象的普遍存在[7,8]。虽然通常认为表观遗传在配子形成过程中会被清除并重新设定，由此阻断了表观遗传信息通过减数分裂在代间传递，但至少哺乳动物的一些基因的表观遗传标记在减数分裂期间没有完全被清除从而能够代代传递[9]，近年来，一些表观遗传标记的保护机制逐渐被发现，如 stella 蛋白能够有效地保护小鼠早期胚胎发生过程中部分基因的甲基化标记，从而使这种标记能从上一代传到下一代[5,10]。表观遗传信息的代间传递为获得性状的传代提供了理论支持。

综上所述，拉马克提出的获得性遗传确实是有可能存在的。首先，后天环境因素可以影响亲代的表观遗传标记；其次，这些表观遗传标记还可能通过某些特殊的保护机制传递给下一代。但是，表观遗传修饰如何选择性地作用于靶基因，表观遗传标记的稳定性、表观遗传机制在隔代遗传过程中的信息传递形式、动态的表观遗传修饰方式与可遗传的表观遗传修饰方式之间的关系仍不清楚。当然，即使获得性遗传确实存在，它也可能只是达尔文进化机制的补充，而并非取而代之，因为遗传信息传递的主要方式并没有改变。

参 考 文 献

[1] Bird A. Perceptions of epigenetics. Nature，2007，447（7143）：396-398

[2] Wolffe A P，Matzke M A. Epigenetics：regulation through repression. Science，1999，286（5439）：481-486

[3] Waterland RA，Lin JR，Smith CA，et al. Post-weaning diet affects genomic imprinting at the insulin-like growth factor 2（Igf2）locus. Hum Mol Genet，2006，15（5）：705-716

[4] Xiong LZ，Xu CG，Maroof MAS，et al. Patterns of cytosine methylation in an elite rice hybrid and its parental lines detected by a methylation-sensitive amplification polymorphism technique. Mol Gen Genet，1999，261：439-446

[5] Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. Nature，2007，447：425-432

[6] Weaver IC，Cervoni N，Champagne F A，et al. Epigenetic programming by maternal behavior. Nat Neurosci，2004，7（8）：847-854

[7] Jablonka E，Raz G. Transgenerational epigenetic inheritance：prevalence，mechanisms，and implications for the study of heredity and evolution. Q Rev Biol，2009，84（2）：131-176

[8] Chong S，Whitelaw E. Epigenetic germline inheritance. Curr Opin Genet Dev，2004，14：692-696

[9] Rakyan V K，Preis J，Morgan HD，et al. The marks，mechanisms and memory of epigenetic states in mammals. Biochem J，2001，356（Pt1）：1-10

[10] Nakamura T，Arai Y，Umehara H，et al. PGC7/Stella protects against DNA demethylation in early embryogenesis. Nat Cell Biol，2007，9（1）：64-71

撰稿人：滕花景 孙中生

中国科学院心理研究所

审稿人：孟安明 朱作言

人类的左利手（左撇子）是如何遗传的?

If the Left-handedness in Human Is Inherited?

大约 90％的人习惯使用右手，被称为右利手；也有不少人习惯使用左手，被称为左利手，俗称“左撇子”。那么利手是否可以遗传呢?

有研究发现，一对都是左利手父母的后代为左利手的概率，高于双亲只有一方是左利手的后代，更高于双亲都非左利手的后代[1,2]。根据 McManus 和 Bryden 1992 年的统计数据，上述三种情况下后代左利手的概率依次是 26.1％、19.5％和 9.5％。通过对于收养后代的进一步研究显示，这种利手关系在养父母和子女之间是不存在的，排除了子女从其父母习惯中养成利手偏好的可能[3]。这些研究结果显示，遗传因素对利手似乎发挥着至关重要的作用。但是如果我们仔细地分析这些数据，却很难用经典的孟德尔遗传规律解释，也就是说这些数据并不符合经典的遗传规律[3]。科学界对此给出了很多猜想，最为人所知的是 McManus 于 1985 年提出的双等位基因模型[4]。在这个模型中，McManus 假设存在两对等位基因，一个称之为随机等位基因（chance allele），简称基因 *C*，另一个称之为右利等位基因（dextral allele），简称为基因 *D*。当子代基因型为 *DD* 时，出现 100％是右利手；子代基因型为 *CC* 时，则出现 50％的右利手和 50％的左利手；子代基因型是杂合体 *DC* 时，出现 25％左利手和 75％右利手的几率。通过这个模型，经过计算，其子代左利手的概率已经近似于上述的统计结果。但是，仍有新的问题无法解释。根据标准的理论统计，约 13.02％的男性是左利手的，而女性中这一数字仅为 8.07％[1]。双等位基因无法回答这种性别间的差异，所以后来有学者提出在双等位基因的基础上增加一条位于性染色体上的等位基因，建立一个三等位基因模型来解释这个问题。然而双生子研究同时表明，同卵双生子也会出现不同利手的情况，并且其同利手的比例不会高于异卵双生子的比例；更为有趣的是，此比例在男性双生子和女性双生子间并没有显著的差异[1]。此时学者又提出再引入一条与双生子有关的等位基因，建立四等位基因模型来解释利手的遗传问题。但是随着模型的日趋复杂和低预测性，不得不令人质疑用等位基因来解释利手遗传的可行性。而且最为关键的是，时至今天，不管是基于哪个模型，影响利手遗传的等位基因仍然都没有找到。随着表观遗传学（epigenetics）的发展，人们发现基因的很多功能在细胞核 DNA 序列不改变的情况下，也可以发生可逆的、并且可遗传的改变，这为利手遗传又提供了新的思路，也许表观遗传中的基因组印记才是利手遗传的真正原因。不过这一切还都有待于科学的检验，利手遗传的现象至今仍然是一个难解的科学难题。

参 考 文 献

［1］ Jones GV，Martin M. A note on Corballis（1997）and the genetics and evolution of handedness：developing a unified distributional model from the sex-chromosomes gene hypothesis. Psychol Rev，2000，107：213-218

［2］ Sommer IE，Ramsey NF，Mandl RC，et al. Language lateralization in monozygotic twin pairs concordant and discordant for handedness. Brain，2002，125：2710-2718

［3］ Hicks RE，Kinsbourne M. Human handedness：a partial cross-fostering study. Science，1976，192：908-910

［4］ McManus IC. Handedness，language dominance and aphasia：a genetic model. Psychol Med Monogr Suppl，1985，8：1-40

撰稿人：王杰思　孙中生

中国科学院心理研究所

审稿人：孟安明

生物节律对动植物生长和人类疾病的影响是什么?

Impact of Biological Rhythm on Growth of Plants and Animals and Human Diseases?

在自然界的各种生物中，从单细胞生物到高等动植物及人类，都存在着按照一定规律运行的，周期性变化的生命活动现象。如温血动物每日睡眠一觉醒、体温、血压与心律等的变化，植物对光周期的感应和候鸟在春秋季节的迁徙等。这种具有周期性的生命活动称为生物节律。生物节律根据其周期的长短，可分为近日节律（周期为 20～28h)、超日节律（周期小于 20h）和亚日节律（周期大于 28h)。大多数生物节律都是近日节律[1]。

生物节律的存在很早就引起了人们的关注。早在公元前 4 世纪，就有关于罗望子树叶片呈近日周期运动的记录[2]。现代研究发现几乎所有物种都存在或多或少的生物节律活动。那么生物节律是由生物体内源控制的、机体本身固有的规律，还是生物体对外界自然环境周期性变化所产生的被动反应呢？关于这一问题，存在外源性和内源性两种假说，但内源性假说占主导。实验证明在与外界隔绝、环境因素恒定、没有任何时间参考的隔离实验室中，受试者的体温仍以接近 24h 为周期做节律性活动，其睡眠-觉醒节律也依然存在。含羞草的叶片即使在黑暗条件下也会以 24h 为周期进行节律性运动。由此说明，生物节律是生物体在进化过程中积累下来的由自身产生和控制的内源性节律，尽管其最早产生的诱因很可能是天体和地球物理因素等的周期性变化。

研究发现生物体内存在一些表达模式具有周期性变化的基因，并且这些基因表达的改变可以导致个体生物节律的紊乱。这种自身表达具有周期性、并且参与个体生物节律控制的基因，被称为节律基因。它们是研究生物节律产生和调控机理的分子基础。果蝇的 *period*（*per*）基因是最早被克隆的节律基因。该基因发生突变可以影响果蝇生物节律周期的长短，甚至造成节律的消失。随后，*timeless*、*clock*、*rigui*、*bmall*、*cry*、*frq* 等节律基因也相继被发现。这些节律基因和其他未发现的成分构成了生物节律的产生与维持的分子基础[3]。

生物节律的存在与正常维持对于动植物的生长发育和人类健康至关重要。如影响生物体的代谢、细胞分化、激素的合成与分泌、植物的开花与结实、动物的体温和神经系统反应速度等。对人类来说，很多神经系统相关疾病，如睡眠紊乱、帕金森病、癫痫病、心血管疾病等的产生都与某些节律基因的表达异常有关。另外，生物节律影响机体对药物的代谢，对于癌症等疾病的治疗也具有重要影响[4,5]。

尽管早在公元前 4 世纪就有了关于生物节律现象的记录[2]，在 18 世纪就有科学家对生物节律现象进行了系统的观察和研究[6]，但由于整个生命科学发展水平、实验条件、数据分析和处理方法等方面的局限，在 20 世纪 50 年代以前，关于生物节律的研究都一直处于萌芽阶段。关于生物节律的遗传机制和分子生物学基础的研究也是过去二三十年内才兴起的。因此，人们对生物节律现象的认识还有很多悬而未决的问题。比较重要的问题包括：不同物种体内的生物节律是由哪些基因控制的？存在哪些未知的节律基因？这些基因表达的周期性及其调控机制如何？它们之间的相互关系如何？哪些环境因素会对生物节律产生影响，其机理和效果如何？哪些节律基因参与疾病的产生和药物代谢的调控？如何对这些基因的表达进行调节从而进行疾病治疗和提高药物的疗效等？另外，关于生物节律的影响及其分子调控机制的研究大多是在动物中针对疾病治疗开展的，关于植物的研究较少。是否能够利用生物节律来调节农作物的产量和对逆境的适应能力，或者改良其他植物的性状，是农业研究中需要解决的一个问题。

生物节律研究面临的另一个重要问题是相关数据和研究方法的匮乏与局限性。生物节律研究数据的最大特点是必须有时间上的连续性。因此，在数据收集上相对一般的生物数据要繁琐得多。另外，由于不同节律基因在一个节律周期内的表达情况可以相差很大，所以数据采集点的多少及其密集程度也会对结果产生很大影响。如果数据采集的时间不当，则可能在分析结果中出现“伪节律”或“伪无节律”，从而导致错误的结论。目前关于生物节律数据的分析方法还很少，主要有余弦法、傅里叶分析法等，但由于不同来源的节律相关数据具有多样性，以及对不同数据间相关性分析的要求越来越高，新的时间相关数据分析方法和从数据整合角度出发的系统分析方法将为生物节律的研究提供巨大帮助。

参 考 文 献

[1] Koukkari WL，Sothern RB. Introducing Biological Rhythms. New York：Springer，2006
[2] Bretzl H. Botaniche Forchungen des Alexanderzuges. Leipzig：Teubner，1903
[3] Refinetti R. Circadian Physiology，2nd ed. Boca Raton：CRC Press，2006
[4] Raizen DM，Mason TB，Pack AI. Genetics basis for sleep regulation and sleep disorders. Semin Neurol，2006，26：467-483
[5] Levi F，Focan C，Karaboue A，et al. Implications of circadian clocks for the rhythmic delivery of cancer therapeutics. Adv Drug Deliv Rev，2007，59：1015-1035
[6] Moore-Ede MC. The Clocks That Time Use. Cambridge：Harvard University Press，1982：4-16

撰稿人： 王秀杰
中国科学院遗传与发育生物学研究所
审稿人： 杨维才　孙中生

某些动物性别转换是如何发生的?

How the Sex Conversion Is Regulated in Some Animals?

动物性别决定与分化发育机制的研究，是近百年来生命科学中的一个重要领域。性别决定是一个复杂的发育调控过程，涉及进化时空的多基因活动。它是遗传、发育与进化等学科的交叉研究领域，是生命科学中遗传-发育-进化前沿主线研究的极好模式。同时，由于雌雄二者必有其一的发育选择，胚胎性腺的形成也是器官发育研究的很好模式。该领域的研究对生命活动规律等理论问题的认识具有借鉴和指导意义，有助于认识从低等脊椎动物到人类的性别决定机制的进化规律。最重要的是，它不仅有利于经济动物性别的人为控制研究，而且对人类性别分化发育异常等多种疾病的病因分析，为寻找可行性治疗方案和预防方法提供了理论基础。

动物性别决定系统根据发育遗传机制大体可分为以下五种类型。第一种性别决定类型为XY型，大多数哺乳类，如人类和小鼠为此类型。雄性为异配即XY性染色体组成。雌性为同配XX型。在哺乳动物性别决定中，Y染色体起决定作用。位于其上的*SRY*基因（sex-determining region Y）是其关键；而X染色体和常染色体起着重要的协同作用。第二种性别决定类型为ZW型，鸟类为这种ZW型性别决定系统。雌性为ZW异配型性染色体，而雄性为ZZ同配型性染色体组成。同时也可能存在性染色体比例和剂量效应。第三种性别决定类型为性染色体与常染色体数量比值，如果蝇虽然也存在X和Y染色体，但是其Y染色体与性别决定没多大关系，只是在Y染色体上存在精子发生基因。果蝇的性别是由X染色体（X）与常染色体（A）的数量比值（X∶A）来决定。第四种性别决定类型为环境性别决定型，例如在两栖类和爬行类等物种中，胚胎发生时期的温度变化决定胚胎向雌性或雄性方向发育。第五种性别决定类型为性别逆转型，如某些鱼类，性别逆转是正常的性别表现形式，某些物种是先雌性发育，经过一个间性的逆转过程后发育为雄性，黄鳝为这一类型的代表物种。也存在一些物种是先发育为雄性，然后再逆转为雌性。性逆转特性的物种一般没有异型性染色体。尽管性逆转的机制至今仍然不清楚，但一般认为是由遗传因素所控制的。

黄鳝（rice field eel或swamp eel，*Monopterus albus*）属于脊椎动物门、硬骨鱼纲、合鳃目、合鳃科（Synbranchidae）。合鳃科下有5个属，即黄鳝属（*Monopterus*）、幽鳝属（*Furmastix*）、大孔鳝属（*Macrotrema*）、蛇胸鳝属（*Ophisternon*）和合鳃鱼属（*Synbranchus*），共17个种，在我国仅发现属于黄鳝属内黄鳝这个唯一种。黄鳝生存力强，广泛分布于东亚及其附近之大小岛屿，包括中国、日本、韩国、泰

国、老挝、印度尼西亚、马来西亚、印度、菲律宾等，在澳大利亚北部和美国东南部等也有分布。作为淡水鱼，黄鳝不仅是东亚地区重要的名优经济水产动物，而且由于它的特殊的进化地位、较小的基因组以及天然性逆转等特性，正逐步成为一个研究遗传、发育和进化的新型模式动物。斑马鱼、河豚以及青鳉等已成为生物学家们熟知的模式物种，黄鳝这个新的模式动物系统的出现和完善，将无疑为生命科学研究提供新的认识途径。

众所周知，鱼类的基因组大小变化很大，核基因组从不到1pg到大于200pg不等。黄鳝属于核基因组最小（0.6～0.8pg）的脊椎动物之一。与其他模式鱼类相比，黄鳝的基因组（600Mb）要比河豚（400Mb）稍微大一点，但是比青鳉（800Mb）和斑马鱼（1700Mb）要小很多。黄鳝线粒体基因组大小与这些模式鱼类差异不大（16 447～16 714bp）。

黄鳝的雌雄同体和天然性反转现象是刘建康院士在60多年前首次发现的[1]，随后他和其他学者在野外和实验室进一步证实了这一现象。黄鳝是产卵的淡水鱼类，卵在体外受精和发育。通常小于两年龄的黄鳝（体长小于40cm）是雌性。在产卵期（四月到八月）产卵两次，大约产卵2000多枚。排卵后，雌性在大约两年的时间里将逐渐经由间性（体长大约30～50cm）转变成雄性。间性时期过后，黄鳝将变成雄性，通常体长大于50cm。在经济价值方面，鱼体越大味道越鲜美，经济价值也越高。体长与性别通常存在一定的关系（图1）。

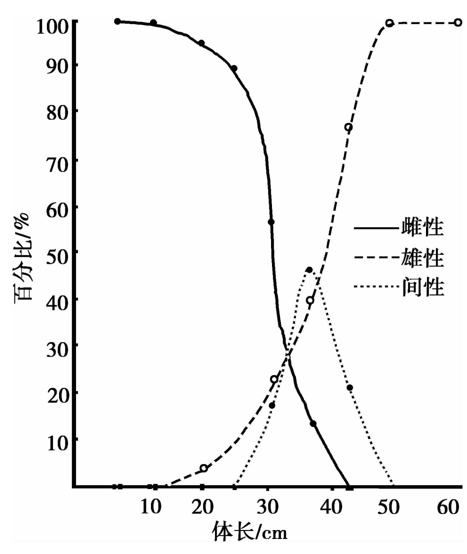


图1　黄鳝性别与体长的关系[2]

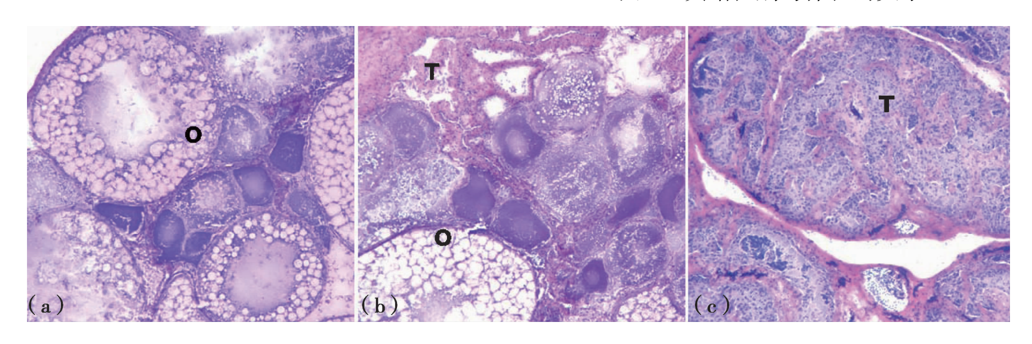


图2　黄鳝三种性腺的HE染色

（a）卵巢；（b）卵睾体；（c）精巢

性腺的组织切片观察证实，在一个生命周期中，黄鳝的性腺经历了从雌性（卵巢），到间性，最终分化到雄性（精巢）的转变过程（图 2）。在黄鳝的性反转过程中，它的卵巢会经过一个卵巢和精巢兼有的过程，在这个过程中它的卵巢组织结构逐渐退化，性腺上皮细胞迅速发育成精巢组织，其性腺最终将转变为精巢，从而发育成雄性个体。作为具有性逆转现象的鱼类，黄鳝在性逆转过程中只能从雌性经过间性转变为雄性，不能从雄性经过间性转变成雌性。目前对这种性反转现象的调控机制了解甚少。激素可以在一定程度上诱导黄鳝的性反转，但是不能起完全决定性作用，遗传学上的性别决定机制才是关键性因素。黄鳝主要的生物学特性在于它存在性别逆转现象，在其生命过程中经历雌性、间性、雄性三个性别时期，而各时期性别分化的转化是一个发育基因有序表达的过程。雌性到间性的分化类似于人类早期胚胎（6～8 周龄）性别分化关键时期—— 这时每个胚胎必须选择雌性或雄性方向发育，这也是为什么性别的形成是器官形成研究的理想模式。黄鳝在性分化研究方面的独特优势使其逐渐成为该领域研究的理想模式动物。

黄鳝的核型是 $2n=24$，都为端着丝粒染色体，其染色体数属于淡水鱼类中最少的种类。黄鳝的染色体显带技术已经建立，不仅体细胞可以显出 G 带带型，而且减数分裂二价体也可以呈现明显的高分辨 G 带带型。在黄鳝中没有发现异型性染色体。那么黄鳝性别转换的遗传学机制又是怎样的呢？遗憾的是至今还没有找到准确的答案。但是，已知一些基因可能参与了性逆转过程，特别是 *SOX 9* 基因，该基因被认为是脊椎动物包括哺乳类、鸟类、爬行类和鱼类性别决定的一个主要基因[3,4]。有趣的是，在黄鳝的基因组中发现了两个 *SOX 9* 基因 [5]，这两个 *SOX 9* 基因在黄鳝三种性腺中的表达谱几乎一致，但其特异地出现在具有双向分化潜能的性腺上皮的外侧，这提示它们在黄鳝性性腺反转过程中有着重要的作用。参与黄鳝性逆转的另外一个关键基因可能是 *DMRT 1* ，该基因是脊椎动物性别决定与分化的重要基因。该基因家族中，*DMY*/*Dmrt 1 Y* 是青鳉性别决定的关键基因[6]，该基因位于青鳉 Y 染色体上。转基因研究显示 *DMY* 可以诱导雄性发育。在研究黄鳝 *DMRT 1* 基因的作用时，发现了五个含有 DM 结构域的基因成员，并进一步克隆了黄鳝的 *DMRT 1* 基因[7]。有趣的是，黄鳝 *DMRT 1* 基因在性腺中存在选择性剪接事件，由此产生至少 4 个转录本。由于果蝇 DM 家族中 *DSX* 基因的选择性剪接，产生了雄性和雌性特异的转录本，由此决定了雄性和雌性的分化发育。黄鳝 *DMRT 1* 基因选择性剪接是否与性反转相关呢？研究发现，该基因表达谱与性反转的转变过程存在一致性。这提示它在黄鳝性反转过程中有重要作用。

由于黄鳝独特的生物学特性（基因组小、天然性逆转等），吸引了越来越多的科学家的广泛的研究。随着研究工作的不断深入，或许将会发现更重要的基因，这将使其成为研究脊椎动物发育，特别是性别发育机制的候选模式生物。相信在不久的将来，黄鳝这个新的模式动物将在认识脊椎动物的性分化、发育、遗传与进化等

方面将发挥越来越重要的作用。这一物种的基因组研究，将加快我们了解复杂生物学机制的步伐。认识性别逆转机制尚有大量的研究工作等着我们去探索。

参 考 文 献

[1] Liu CK. Rudimentary hermaphroditism in the symbranchoid eel，monopterus javancnsis. Sinensia，1944，NS (15)：1-8

[2] Liem KF. Sex reversal as a natural process in the Synbranchi form fish Monopterus albus. Copiea，1963，2：303-312

[3] Morais da Silva S，Hacker A，Harley V，et al. *Sox*9 expression during gonadal development implies a conserved role for the gene in testis differentiation in mammals and birds. Nat Genet，1996，14：62-68

[4] Vidal VP，Chaboissier MC，de Rooij DG，et al. Sox9 induces testis development in XX transgenic mice. Nat Genet，2001，28：216-217

[5] Zhou R，Liu L，Guo Y，et al. Similar gene structure of two *Sox9a* genes and their expres sion patterns during gonadal differentiation in a teleost fish，rice field eel (*Monopterus albus*) . Mol Reprod Dev，2003，66：211-217

[6] Matsuda M，Nagahama Y，Shinomiya A，et al. *DMY* is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. Nature，2002，417：559-563

[7] Huang X，Guo Y，Shui Y，et al. Multiple alternative splicing and differential expression of *dmrt*1 during gonad transformation of the rice field eel. Biol Reprod，2005，73：1017-1024

撰稿人：周荣家

武汉大学

审稿人：孙青原　朱作言

动物胚胎形态素的浓度梯度是如何建立和应答的?

How Morphogen Gradients Are Established and Interpreted?

动物个体如何从一个受精卵发育成复杂的机体一直是发育生物学家关心的问题。在多细胞动物形态建成中，细胞在发育中存在着位置信息，不同位置的细胞最终能够发育分化成特定的、不同形态的组织。这些细胞早期的位置信息是如何决定的呢? 目前广泛认为是由形态素（morphogen）的浓度梯度决定的。浓度梯度决定位置信息（position information）的概念最早是100多年前由发育遗传学家摩尔根提出的，1969年Wolpert对此加以概括完善[1]。morphogen一词来源于1952年Turing用于解释动物斑纹图案形成。他认为有两个叫morphogen的化学物质，其不同梯度的分布根据特定的数学方程模型可以形成有规律的图案。

虽然形态素理论很早就提出了，但科学家直到20世纪80年代末、90年代初才真正确定了形态素的分子基础[2]。目前发现的形态素主要包括Bicoid、BMP/DPP、Hedgehog（Hh）、Retinoic acid、Activin、Wnt等，其中转录因子Bicoid是果蝇胚胎细胞内的形态素，Retinoic acid是非蛋白质的小分子形态素，其他的形态素多为细胞外分泌的蛋白质。形态素浓度梯度的理论认为，形态素是一种控制组织发育形态的物质，其分布呈现浓度梯度的特性，这样细胞可以通过对特定形态素分子浓度梯度的识别获得发育的位置信息，形态素浓度的微小差异可让细胞进入不同的分化途径。由于同种动物个体间存在着较大的个体差异，但其发育形态基本没有变化，因此形态素浓度梯度理论又认为形态素至少具有鲁棒性（robustness，稳定性）与灵活性（flexibility）的特性[3]。鲁棒性即形态素浓度梯度可以兼有近距离与远距离的直接作用，还可以通过反馈作用抗干扰；灵活性即细胞对不同浓度的形态素可以有不同的反应。因此动物胚胎中形态素的浓度梯度分布及响应机理是一个重要基础科学问题。其中关于形态素的生物学作用最关键的两个问题是：①形态素的浓度梯度分布是如何产生并维持的；②细胞对形态素不同浓度的响应机理是什么。

形态素浓度梯度的产生主要是通过区域性的形态素的表达，形成由近到远的、从高到低的浓度梯度。这种浓度梯度的形成不单单是一个被动的扩散过程，多种因素决定了浓度梯度的特性，包括浓度梯度的作用距离（distance）、斜度（slope）、线性稳态（linear stability）等[4]。目前主要认为有两种方式：辅助扩散（facilitated diffusion）及转胞吞作用（transcytosis）参与了形态素的扩散以及浓度梯度的建立。以果蝇DPP为例，研究发现细胞外的肝素蛋白多糖（heparan sulphate proteoglycan）Dally和Dally-like可以增强DPP在细胞表面的扩散[5]。另外DPP也可能

通过由细胞的胞吞作用进入细胞、并再次分泌到与其相邻的细胞外的过程进行传递，这个转胞吞过程需要 Dynamin，它是一种在胞吞过程中起重要作用的 G 蛋白。这些发现主要是通过对形态素分子进行标记观察到的。除此之外，形态素可以有多种不同的脂类共价修饰，如 Hh 可以结合胆固醇，这些脂类修饰也可以影响形态素的扩散。

细胞接触到形态素后是如何识别形态素并对其浓度梯度起不同响应的呢？以细胞外的形态素为例，细胞表面的形态素受体可以结合形态素，并通过特定的信号转导途径作用于靶基因，开启或关闭靶基因的转录，形成一种影响基因表达的位置开关的效果，进而达到调控细胞分化的目的[6]。大多数分泌型的形态素有多个受体，各个受体与形态素分子结合的亲和力不同，因此通过这些不同的受体及其组合，细胞可以感受不同浓度的形态素分子。不同程度激活的受体分子最终导致不同的基因转录（转录水平不同、靶基因不同等），最终产生所谓的梯度效应。简单举例来说，高、中、低三种不同浓度的信号分子可传递应答细胞，让其分别进入三条不同的分化途径。另外，在发育过程中常常有多种形态素存在，保证了胚胎中特定位置上的细胞有精确的、与周边细胞不同的位置信息，从而获得不同的发育命运，就像给体育场的每一个位置赋予一组特定的位置信息（如区、排、号、颜色）就可组成特殊的图案一样。

因此目前对动物胚胎中形态素的浓度梯度分布及响应机理有了初步的认识，但因为形态素的作用是一个快速的、动态的、极其精确的过程，目前的一些实验手段还不能完全模拟体内的实时环境，所以还有许多问题亟待解决。例如，形态素的浓度梯度是如何精确反应个体差异的？形态素的浓度梯度反馈调节的能力如何？形态素浓度梯度的精度与准确度是如何调控的？在“线性”形态素梯度中的应答细胞可能出现非线性的形态形成，那么相邻的细胞是如何对非常细微的形态素浓度差异产生完全不同应答的呢？细胞对形态素响应的放大机制是什么？细胞对形态素响应的反馈机制？因为形态素在很多物种中的功能是保守的，那么在不同大小的胚胎和组织中，相同的形态素的建立和应答是如何针对胚胎大小调整的呢？多种形态素是如何相互作用的？新技术、新方法的运用可以为解决这些问题提供线索与新的思路。例如，利用活体成像技术结合荧光标记，Gregor 实验室在活体状态下观察了果蝇中 Bicoid 的浓度梯度，发现 Bicoid 梯度比以前观察的精确性更高，可以有效抵消背景噪声信号；并且揭示了在细胞分裂过程中，Bicoid 梯度的动态变化[7,8]。因此未来更多的发现会让我们彻底解析这些问题，揭示生命的奥秘。

目前对形态素的了解大都来源于对果蝇等低等动物的研究，对哺乳动物中的形态素的形成及其应答机理了解得非常有限。对哺乳动物形态素的研究尤其需要技术手段的创新。

参 考 文 献

［1］ Wolpert L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. J Theor Biol，1969，25：1-47

［2］ Lander A. Morpheus unbound：reimagining the morphogen gradient. Cell，2007，128：245-256

［3］ Tabata T，Takei Y. Morphogens，their identification and regulation. Development，2004，131：703-712

［4］ Teleman A，Strigini M，Cohen S. Shaping morphogen gradients. Cell，2001，105：559-562

［5］ Affolter M，Basler K. The decapentaplegic morphogen gradient：from pattern formation to growth regulation. Nat Rev Genet，2007，8：663-674

［6］ Gurdon J，Bourillot P. Morphogen gradient interpretation. Nature，2001，413：797-803

［7］ Gregor T，Tank D，Wieschaus E，et al. Probing the limits to positional information. Cell，2007，130：153-164

［8］ Gregor T，Wieschaus E，McGregor A，et al. Stability and nuclear dynamics of the Bicoid morphogen gradient. Cell，2007，130：141-152

撰稿人： 黄　勋

中国科学院遗传与发育生物学研究所

审稿人： 孟安明　张　建

子宫是完成胎儿发育所必需的环境吗?

Is Uterus a Necessity for Embryonic Development?

自首个试管婴儿路易丝·布朗于1978年诞生以来，通过试管婴儿技术（即体外受精技术，IVF)，在全球已经诞生了超过300万个婴儿。虽然称为试管婴儿，但实际操作中，精子和卵子通过体外受精形成的受精卵在体外培养一段时间后，就必须移入到母体子宫内继续生长和发育，而不是整个生殖过程在体外完成（即体外生殖)。就目前来看，子宫对于胎儿的发育仍是必需的。

子宫是大多数哺乳动物主要的雌性激素反应性器官。妊娠期间，胎儿在子宫内完成发育和生长过程。子宫的一端与输卵管相连，另一端通过子宫颈开口于阴道。不同动物中，子宫的形态各异，部分啮齿类、少数翼手类和象为双子宫；一些啮齿类、猪、牛和少数翼手类为双分子宫；多数有蹄类、部分食肉目、食虫类、多数翼手类和鲸类为双角子宫；马、猿、猴和人为单子宫，即两侧子宫完全愈合为单一的整体。人子宫呈倒置梨形，分为子宫底、子宫体和子宫颈三部分。子宫的大小和形状随着年龄和生育状况发生很大变化，新生儿的子宫长约2～3cm，未生育的成年妇女子宫长约5～8cm，经产妇女的子宫长约9cm。子宫由子宫内膜、子宫肌层和子宫外膜三层构成。子宫肌层是子宫最厚的一层。在妊娠期，子宫肌层中平滑肌细胞的长度逐渐增加，对胎儿的发育和产出都有重要作用。子宫内膜位于子宫腔面，由功能层和基底层组成。自青春期开始到绝经期结束，子宫内膜在卵巢类固醇激素的影响下，靠近表面三分之二的部分每隔28天左右出现一次周期性脱落并伴随出血，即月经。在月经周期中，功能层部分或全部丢失，而基底层在整个生殖周期都存在。子宫内膜中有子宫腺，能分泌多种物质，除对胎儿具有重要的营养作用外，对于胚胎着床、妊娠识别和胎儿的存活与发育起着重要的调节作用。妊娠后，在子宫中形成的胎盘在物质代谢、激素分泌及防御等方面对胎儿的发育起至关重要的作用。

虽然试管婴儿的成功率在不断提高，但目前总的成功率仍不到30%。这对开发更有效的辅助生殖技术来说是一大障碍。现在的辅助生殖技术已经有了很大进步，能够使没有生育能力的人实现生儿育女的梦想。已经使得研究和人工干涉除胚胎着床外的每一个人类生殖步骤成为可能[1]。改进子宫内膜的接受性和胚胎质量可提高妊娠率、降低早期妊娠失败率和多胎妊娠率等[2]。胚胎着床是哺乳动物妊娠建立过程中一个十分重要的环节，是发育到胚泡期的胚胎和处于接受状态的子宫内膜之间建立通讯联系的过程。如果胚胎和子宫在分子和细胞水平的相互作用发生异

常，胚胎就不能正常着床。与其他动物相比，人类的胚胎着床效率不高[3]。在妊娠损失中，75％是着床失败导致的。胚胎着床是一个十分复杂的过程。尽管已经证实很多因子在胚胎着床过程中起重要作用，但对于促使胚胎黏附到接受态子宫腔上皮的各种分子的相互关系仍知之甚少。另外，到目前为止，对于人子宫内膜的接受性没有一个公认的指标[2,4]。

子宫虽然是极好的支持胚胎发育的地方，但并不是通常认为的惟一的地方[5]。很早以前，人们就发现小鼠的胚泡能在肾、腹腔，甚至在睾酮浓度最高的睾丸中生长。宫外孕是胚胎在子宫内膜以外的组织中着床的一种妊娠方式。95％的宫外孕发生在输卵管中，1.5％发生在腹腔中，0.5％发生在卵巢上，0.03％发生在子宫颈中。输卵管妊娠的发病部位以壶腹部最多，约占 55％～60％；其次为峡部，占 20％～25％；再次为伞端，占 17％；间质部妊娠最少，仅占 2％～4％。在 IVF 中，约 2％～5％的临床妊娠为宫外孕，在具有宫外孕史或输卵管性不孕症的妇女中发生宫外孕的几率更高。正常妊娠中，宫外孕的几率为 1/4000，在卵巢受刺激后比例增加。现在还没有办法将一个宫外孕胚胎移植入子宫，所以终止妊娠是目前惟一的选择。事实上，如果宫外孕没有被发现和治疗的话，胚胎会一直生长，直至输卵管破裂。输卵管妊娠是妇产科常见急腹症之一，当输卵管妊娠流产或破裂急性发作时，可引起腹腔内严重出血，如不及时诊断、积极抢救，可危及生命。幸运的是，绝大部分宫外孕都能得到及时治疗[6]。除输卵管妊娠外，有一小部分的宫外孕发生在腹腔，发生率为宫内妊娠的 1/15 000，母体的死亡率较高。近年来，在中国和约旦等地均报道，通过剖腹产，已出生了腹腔宫外孕发育到期的胎儿[7]。腹腔宫外孕的高风险和低发生率使其很难作为替代子宫的一种妊娠方式，但对于腹腔宫外孕的研究将有助于我们了解胚胎与子宫的相互作用机理。

早在 1932 年，英国小说家赫胥黎（Aldous Huxley）在其著名的小说《美丽的新世界》（*Brave New World*）中，首次提出人造子宫的设想。最近，人工子宫的研究取得了很大进展。世界上首次试图为山羊胎儿建立人工子宫是在 1999 年，日本东京顺天堂医院的桑原义范教授（Yosinori Kuwabara）和同事开始了这方面的实验。他们设计了一个大型烤面包机大小的塑料容器，里面充满羊膜液，并保持在适宜的生理温度。将胎儿脐带连在两个机器上，共同执行胎盘的功能，将血液、氧气和营养物质送进去，并清除废物。将一个利用剖腹产得到的 2.7kg 的 20 周龄的山羊胎儿放入其中后，这个胎儿与其他胎儿一样，可眨眼睛和踢腿。这个实验的目标是将山羊胎儿存活到出生期的 21 周龄。他们将一个 17 周龄的山羊胎儿自母体取出后，放在人工子宫中存活了三周时间[8]。这种技术也称为子宫外胎儿孵育，目前还没有成熟到适用于人的阶段。这种方法适用于已经建立了体外循环的胎儿的发育，是基于人工保育箱、心血管灌流技术、人工膜肺等技术，将可挽救的胎儿从早产婴儿时期提前到极端早产胎儿时期的人工培育方法。早产儿占分娩总数的约

10%，其中15%的早产儿于新生儿期死亡。

上述方法虽然能处理发育后期胎儿的物质与能量交换问题，但是却不能解决受精卵在人工系统中的早期发育问题。Cornell大学生殖中心刘鸿清（Hung-Ching Liu）在研究胚胎怎样黏附到子宫内膜的过程中，将人受精卵与子宫内膜细胞一起培养，他对培养过程进行了改进，将子宫内膜首先培养在一个1cm宽的预先铺上胶原基质的塑料培养盘上，这样可使细胞形成类似于子宫内膜的多层结构。正如在子宫中一样，受精6天后，受精卵黏附在培养的子宫内膜细胞层上。她认为在子宫样条件下生长的胚胎能够改进IVF的成功率。她计划将实验延伸到受精后14天，以便研究胎盘怎样开始生长。这种人造子宫内膜，与女性子宫内膜相比，不仅在组织结构上相似，而且功能也差不多。

2007年日本东京大学的藤井照雄（Teruo Fujii）教授研制了一种塑料芯片似的人造子宫。这种微型人造子宫在外形上与芯片十分相似。它呈长方体，宽2mm，高0.5mm，中间圆形的凹槽是受精卵着床的地方，里面有子宫内膜。“芯片”剩下的部分用双层硅树脂平铺，四角的3个通道分别用来放入精子、卵子及营养液。人造子宫培育的胚泡中，80%在72小时就可以移植到母体子宫内，而在常规微滴环境下，相同时间内只有20%的胚泡可以用于移植。受精卵可以在这种“子宫”里快速生长，有可能使体外生育成为现实。这些方法中的“人造子宫”，实际上为“人造子宫内膜”，使用人造基质支撑子宫内膜。对于早期胚胎来讲，目前的体外培养方法仍离不开子宫内膜。我们离真正的人造子宫还很远，还有很多问题没有解决。

当一些科学家急于将研究扩展到更早期的胚胎，致力于增加胚胎的存活率以及IVF的成功率时，另一些人则研究妊娠的另一端，不断地提高早产儿的生存率。现在的胎儿最早在妊娠22周左右出生才能生存。将来，胎儿在12周左右出生也有可能存活。这两股力量的汇合将开创一个人类生殖的新时代，使我们有可能实现完全的体外生殖[1]。到那时，受精卵在实验室制造后，在一个人工子宫样环境中发育直至妊娠到期，这样得到的小孩没有从母体出生的概念[8]。人工子宫将会行使天然子宫的功能，使小孩孕育并发育到身体成熟。现在子宫因素的不孕症妇女想获得后代，只有通过代孕母亲来实现。将来，人工子宫的出现可为这一群体带来福音。

这个系统的优点是可使胚胎在不受疾病、环境污染、酒精、药物等影响的环境中发育，而这些因素在母体的循环系统中可能是存在的。此外，这个系统也降低了流产和早产儿的可能性，可使着床后17周的胎儿在母体子宫外发育到期。但是，胎儿也不会受到母体免疫系统的保护。反对者认为，即使从人工子宫来的胎儿看起来正常，但他们可能缺失母体与胎儿间的情感交流[1]。

虽然，人工子宫将有可能使胚胎完全在体外发育，但很多研究发现，尽管由体外产生的胚胎移植后得到的胎儿和胎盘大多数是正常的，但也有一部分显示胎儿、

胎盘或两者均有异常，这些异常称为过大胎儿综合征，包括出生重增加、围产期死亡、尿过多和流产增加等[9]。过大胎儿综合征的出现可能是因为培养基中存在血清和共培养细胞等因素导致的，从而导致体内生殖道中胰岛素样生长因子系统成分的产生和分泌发生改变，影响了以后的胎儿发育。目前，体外胚胎生产系统的应用已经使先进的胚胎操作技术在科学研究和胚胎移植工业中得到广泛应用。但与体内产生的胚胎相比，在这些系统内产生的胚胎形态各异。另外，特殊的培养系统也影响由这些胚胎来的后代的发育潜能。成体疾病的胎儿来源说认为，子宫对于胎儿的一些影响可能会导致成体的一些疾病。出生后的发育、生长和生理等一系列长期过程的异常也可能是由胚胎时期不适宜的培养引起的。基因印迹和其他表观遗传学机制可能控制胚胎、胎盘和胎儿中基因表达模式的确立和维持。在着床前发育过程中，表观遗传调节的紊乱可能会导致严重的后期效应[10]。

将来有可能从诱导性多能干细胞（iPS）得到精子和卵子。现在已经可以从皮肤细胞制备 iPS 细胞，由这些 iPS 细胞制造生殖细胞后，将它们结合就能制造胚胎。理论上讲，我们应该有能力制造任何器官。一组体细胞能被转化为器官的干细胞，再使它们分化成一个功能性器官。但由于目前难以实现多潜能干细胞的定向分化，以及很难进行组织和器官的三维构建，加之子宫的结构十分精细复杂，要制造一个真正意义上的“人工子宫”还有很长的路要走[5]。未来 30 年内，能够预测的是人工胎盘的出现。它可解除我们目前所面临的很多限制[1]。可以想象，一个胎儿自由地悬浮在液体中，脐带连在机器上。但现在仍不清楚着床过程是否是必要的。对胚泡来说，胎盘可能对于胚胎的正常形态发生是必需的。就目前来看，在子宫以外的其他组织甚至在体外条件下，受精卵也能生长和发育，但子宫或子宫内膜对于胎儿完成发育仍是必需的。

参 考 文 献

[1] Pearson H. Making babies：the next 30 years. Nature，2008，454：260-262

[2] Aplin JD. Embryo implantation：the molecular mechanism remains elusive. Reprod Biomed Online，2006，13：833-839

[3] Busso CE，Melo MA，Fernandez M，et al. Implantation in IVF. Int Surg，2006，91：S63-76

[4] Wang H，Dey SK. Roadmap to embryo implantation：clues from mouse models. Nat Rev Genet，2006，7：185-199

[5] Yanagimachi R. Germ cell research：a personal perspective. Biol Reprod，2009，80：204-218

[6] Barnhart KT. Clinical practice. Ectopic pregnancy. N Engl J Med，2009，361：379-387

[7] Badria L，Amarin Z，Jaradat A，et al. Full-term viable abdominal pregnancy：a case report and review.，2003，268：340-342

[8] Rosen C. Why not artificial wombs? New Atlantis，2003，3：67-76

[9] Viuff D，Rickords L，Offenberg H，et al. A high proportion of bovine blastocysts produced

in vitro are mixoploid. Biol Reprod，1999，60：1273-1278

[10] Fernández-Gonzalez R，Ramirez MA，Bilbao A，et al. Suboptimal in vitro culture conditions：an epigenetic origin of long-term health effects. Mol Reprod Dev，2007，74：1149-1156

撰稿人： 杨增明

厦门大学

审稿人： 朱作言　孙青原

为什么有的哺乳动物胚胎延迟着床?

Why Embryo Implantation Is Delayed in Some Mammalian Species?

受精卵经过多次分裂达到囊胚阶段后，必须在子宫内成功着床才能够进一步在母体内发育成一个新的生命体。而胚胎延迟着床（delayed implantation or embryo diapause）则指的是在某些物种或某些情况下，进入子宫的胚胎（囊胚）并不立即启动胚胎着床，而是以一种休眠状态保存于母体子宫中；直到适当的时候母体通过特定的机制激活休眠的胚胎引发胚胎着床并进一步发育。胚胎延迟着床导致的直接结果是妊娠期被延长，具体延迟的时间长短与物种和所处环境的差异密切相关，有时延迟着床的时间甚至可以长达 1 年。目前已经知道近 100 种哺乳动物都存在胚胎延迟着床的现象[1]（图 1）。



图 1　部分有延迟植入现象的野生动物

那么，胚胎延迟着床对于野外生存的动物有什么样的生物学意义呢？目前认为，胚胎延迟着床的发生是动物演化过程中为了适应环境，更好地生存繁衍所采取

的一个成功的进化策略。因为对于自然界的动物来讲，怀孕对于母体是一种很大的能量投资，如果怀孕（产仔）的时间发生在环境温度/食物状况恶劣或母体营养状态欠佳等不利环境中，新生幼仔死亡率会随之上升，这对于母体的能量投资就造成了不必要的风险。对于一个物种来说，胚胎一旦发生植入，接下来发育到幼仔出生的时间是相对固定的，而胚胎延迟着床的进化策略则使得调节妊娠期长短成为可能，进而帮助实现野外哺乳动物最佳交配时间和最佳产仔时间的顺利对接；同时胚胎延迟着床也为一些特殊的营养/能量需求应激期（比如哺乳期）的妊娠提供了一种既能满足现有能量消耗（哺乳），又不损失妊娠的方案。总之，胚胎延迟着床的发生是动物在演化过程中为了最大限度繁衍后代所产生的生物现象。

对于自然界的哺乳动物来讲，胚胎延迟着床根据其发生条件的不同具体可分为两种形式：①专性延迟；②兼性延迟。对于专性胚胎延迟着床的物种来说，胚胎延迟着床是生殖周期中的一个固定组成环节，在每一个妊娠周期都会发生。包括如熊科动物、鼬鼠、貂、麋鹿、某些蝙蝠、犰狳等[2]。专性延迟着床的发生受到自然界环境因素如光照、温度以及食物的供给状况的调控。例如在一些肉食动物中，外界环境的低温可以使得子宫中胚泡休眠的时间延长；而外界光照时间的延长（预示季节转暖）则可以终止胚胎的休眠状态，促进植入发生。这种机制使得一些野生动物能够在一年中气候适宜的时间产下幼仔。例如麋鹿在每年的 7～8 月交配，而产仔发生在第二年的 5～6 月。

兼性延迟着床主要存在于啮齿动物和有袋类动物中。发生于母体的能量状况与支持体内胚胎发育产生矛盾时[2]。例如在小鼠、大鼠等啮齿动物中，母鼠在分娩后处于一个产后发情期，可以接受交配并受孕。此时如果允许母鼠给幼仔哺乳，则可以导致发育到囊胚阶段的胚胎着床延迟发生；通过实验证明，哺乳的小鼠越多，胚胎植入延迟的时间越长，这与幼仔对母鼠产生的吮吸刺激有关。事实上这种机制保证了母体始终最大限度地将能量投入于繁殖后代。

关于不同物种的动物机体如何将外界环境刺激（光照、哺乳等）转变为体内信号进而启动和终止延迟着床的机理还不是十分透彻。一方面是由于研究材料的稀少以及体内研究手段的限制；另一方面也是由于延迟着床的发生的内在机制在各种物种中存在很大的差异。例如，泌乳素（prolactin）对于貂来说是起到终止胚胎休眠，促进胚胎着床的作用，而在有袋类动物和一些啮齿类动物中泌乳素则是起到抑制着床，维持胚胎延迟的作用[2]。对于其他很多物种来说，延迟着床的发生及着床启动机制还很不明确，目前研究得比较清楚的是关于大鼠和小鼠等啮齿动物的延迟植入机制。在 20 世纪 40 年代，生殖生物学家发现，如果给予处于延迟着床的哺乳期的大鼠注射少量的雌激素可使处于延迟着床的胚泡迅速发生着床。相同的结论也很快在小鼠中得到了证实。这些结果令科学家们开始认识到在小鼠、大鼠等啮齿动物中，卵巢雌激素对于胚胎植入的启动是必需的，而哺乳期发生的延迟着床现象则

是由于这一时期哺乳对雌激素分泌的抑制[3]。这证明了延迟着床的发生和着床的重新启动受到下丘脑-垂体-性腺轴的严格调控。基于此理论，可以通过给妊娠小（大）鼠去卵巢加孕激素处理的方法人为地使小（大）鼠造成着床延迟，在此基础上给予少量的雌激素则可以迅速启动胚胎着床。通过这种人工延迟着床模型，近年来在小鼠中已发现了很多与胚胎休眠-激活相关的子宫内/胚泡分泌因子以及相关信号通路[4,5]。该模型已成为研究胚胎植入过程中胚胎和母体相互作用机制的一个有力工具。

以小鼠为例，目前已经知道胚胎延迟着床发生和启动涉及严格的激素调控以及母体和胚胎间复杂的分子信号交流。例如，*LIF* 基因在子宫中受雌激素的调控，如果母体敲除 *LIF* 基因后，胚胎着床不能发生，胚胎可以以休眠状态在子宫中保存，如果给予外源性的 *LIF* 则可以重新启动着床，说明来自母体的 LIF 对于着床的启动是至关重要的[5]。再如 *HB-EGF* 基因，在处于延迟着床的休眠胚胎中呈低表达，当给予少量雌激素启动着床时，来自胚胎的 *HB-EGF* 表达明显增强，并诱导该基因在囊胚所处位置子宫上皮的强烈表达，形成一种 *HB-EGF*“自我诱导环”(self-loop induction)[6]。最近已证明 *HB-EGF* 基因敲除的小鼠表现出胚胎植入的缺陷[7]。另外，近年来通过基因芯片分析技术研究发现：处在休眠/激活两种不同生理状态下的小鼠囊胚在分子水平上呈现特异性差异表达[6]，其中有表达差异的基因按照主要功能的不同可分为细胞周期相关、细胞信号相关以及能量代谢相关，提示囊胚从休眠到激活功能上的变化是由一系列复杂的转录水平的事件所调控。然而，当前关于延迟着床启动和结束的具体细节的了解还很有限，这主要受限于难以从动物和人类获得足够的胚胎组织样本进行分析。随着微量蛋白质组学及基因组学等分析方法的普及和发展，相信在不久的将来对延迟着床相关的母体/胚泡信号的深入分析会更加清楚地从机理上认识延迟着床这一奇特的自然演化现象，为更好地保护野生动物，以及阐明与着床窗口相关分子网络调控提供新的契机。

值得一提的是，我们国家的国宝大熊猫也属于延迟着床动物。20 世纪 80 年代，我国科学家曾国庆研究员通过长时期观察大熊猫妊娠过程以及监测大熊猫尿液中激素变化，发现大熊猫妊娠后很长一段时间内，尿中妊娠相关激素水平没有太大变化，而一旦出现黄体酮和绒毛促性腺激素的上升，即在相对固定的时间内（约 45 天）发生分娩[8]；由此得出推论大熊猫属于延迟着床动物。监测中观察到的黄体酮和绒毛促性腺激素的上升提示着床的发生。事实上，不同大熊猫或者同一大熊猫的不同妊娠周期中妊娠长度存在很大的差异，从 76 天到 180 天不等，但出生的大熊猫幼仔的个体都类似，也提示了胚胎曾在子宫内休眠。最近，我国科学家已通过更为直接的超声检测手段肯定了以上结论[9]。大熊猫的这一生殖特性在演化上保留了熊科动物的痕迹，然而大熊猫并不像大多数熊科动物一样冬眠并拥有较为规律稳定的妊娠期，对于野外生存的大熊猫的延迟着床情况以及生理意义还有待考察。

总而言之，胚胎延迟着床是动物在自然界中为了适应环境，更好地生存而产生的生物学现象。动物如何将外界环境刺激（光照、哺乳等）转变为体内信号，进而启动和终止延迟着床的过程涉及神经-生理、细胞-分子水平的复杂调控，这些机理有待科学家进一步深入研究和探讨。

参 考 文 献

［1］ Renfree MB，Shaw G. Diapause，Annu Rev Physiol，2000，62：353-375

［2］ Lopes FL，Desmarais JA，Murphy BD. Embryonic diapause and its regulation. Reproduction，2004，128：669-678

［3］ Whitten WK. Endocrine studies on delayed implantation in lactating mice；role of the pituitary in implantation. J Endocrinol，1958，16：435-440

［4］ Paria BC，Lim H，Wang XN，et al. Coordination of differential effects of primary estrogen and catecholestrogen on two distinct targets mediates embryo implantation in the mouse. Endocrinology，1998，139：5235-5246

［5］ Wang H，Dey SK. Roadmap to embryo implantation：clues from mouse models. Nat Rev Genet，2006，7：185-199

［6］ Hamatani T，Daikoku T，Wang H，et al. Global gene expression analysis identifies molecular pathways distinguishing blastocyst dormancy and activation. Proc Natl Acad Sci USA，2004，101：10 326-10 331

［7］ Xie H，Wang H，Tranguch S，et al. Maternal heparin-binding-EGF deficiency limits pregnancy success in mice. Proc Natl Acad Sci USA，2007，104：18 315-18 320

［8］ 曾国庆，刘维新 . 动物学报，1992，38：429-434

［9］ Zhang H，Li D，Wang C，et al. Delayed implantation in giant pandas：the first comprehensive empirical evidence. Reproduction，2009，138：979-986

撰稿人：王海滨　段恩奎

中国科学院动物研究所

审稿人：朱作言　孙青原

动物器官形态和大小是如何控制的？

How Animal Organ Size and Shape Are Controlled?

多细胞复杂动物的功能是由不同的器官独立或者协调完成的，例如在高等哺乳动物体内，肾脏是主要的排泄器官，心脏是重要的循环器官，肺主要行使呼吸功能，肝脏具有解毒的功能，胰脏的一个主要作用是调节血糖的水平，大脑则主要负责思维等。虽然各种器官在生物体内都各自执行一个主要的功能，但是任何观察过动物解剖的人都会注意到一个现象，那就是动物各种器官的形状是完全不同的，另外一个现象是在同一物种中不同个体的相同器官的形状和大小总是非常类似的，这两个特点一般来说并不随动物所处的环境有巨大的变异。多细胞动物一般都是由一个受精卵通过细胞分裂分化形成的，形成大小和形态相对稳定的器官显然是由可遗传的调控网络完成的。动物器官的形态和大小是如何控制，是生物学领域长期受到重视和研究的问题，然而目前尚没有完整的答案[1-3]。很显然，除了满足人类对自然界的好奇心之外，研究器官大小和形态对于阐明人类疾病（包括创伤和肿瘤等）的致病机理以及治疗都有重要意义。

要认识器官形态和大小控制的机理，首先有必要了解动物器官是如何发生的。以心脏发育为例，在早期胚胎发育中，首先出现三个胚层的分化，其中侧板中胚层中的生心前体细胞通过细胞的增殖、分化、迁移、形态建成等过程形成心脏的原基，之后通过一系列的细胞和组织的相互左右，与血液细胞组成基本的循环系统，同时神经系统也整合进来，参与调控心脏的节律等。因为多细胞动物体内的细胞大小基本上被限定在一定的范围内，因此器官的大小一般认为由最终器官的细胞数决定。现在一般认为器官发育是按照指令性模式（instructive model）进行的，而这些指令是由细胞外信号控制的。这些指令又有多种类、多层次的差别，例如，决定器官原基在什么发育时间和在胚胎什么位置形成的调控信号与决定器官大小和形态可能是不同的。

过去三十多年来，运用多种模式动物系统，尤其是对果蝇、小鼠等动物器官的研究已经揭示了器官原基形成的基本分子机理，一个比较显著的发现是控制特定器官原基发育的很多重要因子往往是转录因子，这些调控细胞核内靶基因表达的转录因子与细胞外信号相互作用，决定了特定器官发育的起始。例如，决定眼睛发育的主控基因是转录因子 Pax6，Pax6 调控眼睛发育的网络从果蝇到脊椎动物（如非洲爪蟾等）都是保守的，这可以从异位表达 Pax6 获得眼睛样器官得到验证。异位发育的眼睛具有基本的感光等功能，表明 *Pax 6* 的确是不依赖于胚胎位置的主控基因[4]。然而，在果蝇中，由于 *eyeless*（*Pax 6* 的同源基因）表达产生的异位眼睛的

形态和大小与正常发育的眼睛有着巨大的差别（图 1）。因此可以得出这样的结论——器官原基形成，包括早期的分化和部分增殖的调控与器官大小和形状的控制是由不同的机制完成的。

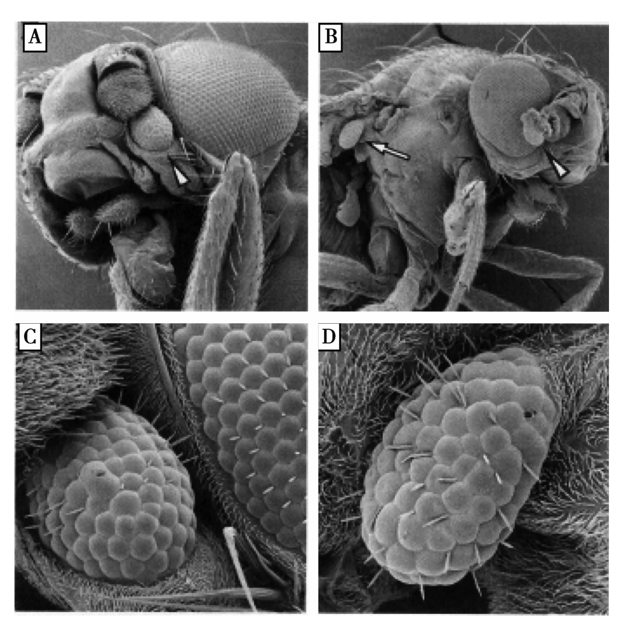


图 1　异位表达 *eyeless*（*Pax 6*）导致异位功能性眼睛发育[4]
A 和 B 中箭头所示为异位眼。C 中左下和
D 均为异位眼，C 右上部为正常眼

原始器官原基形成之后，随之而来是严格调控下的特定细胞增殖和继续分化。一个简单的问题是所有的器官在初始的细胞增殖开始之后，不但需要知道什么时候停止细胞分裂，还需要知道从什么方向分裂，以及分裂的速度；另外一个方面，有的器官也许还需要特定程序来选择性地清除一些不需要的细胞，例如通过细胞凋亡过程清除多余细胞。是不是细胞选择退出细胞周期的信号与细胞开始分化的信号是一类呢？机体如何在似乎是完全相同的细胞中选择部分细胞进入凋亡途径呢？对于器官大小，甚至动物个体大小的发育来说，外界的信号显然对此有重要的影响，例如营养的多少可以调节个体大小，也间接影响器官的大小；然而一般来说对器官的形态的影响是微乎其微的。

另外一方面，器官大小和形状的发育又是可塑的，也就是说调控器官大小和形态的分子网络具有一定抗击环境影响的能力。例如，果蝇的成虫盘的大小、形态在不同营养状态下的变化并不明显，特定的成虫盘的细胞如果丢失，该成虫盘具有通过特定细胞增殖来弥补损失的能力。高等脊椎动物（包括人类）也保留了一定器官的可塑性，例如：如果将人的肝脏部分切除，肝脏可以再生，弥补失去的细胞，让

该脏器回复到受损之前的形态和大小。虽然这种现象已被认识数千年，但是目前对这种器官可塑性的调控机理尚没有清楚的答案。同时，为什么只是有的器官具有这样的可塑性、而其他器官却没有这种能力也是一个谜。很显然，了解器官再生的分子机理，对于现代医学发展具有深远的意义。

实际上，要认识器官的发育，有必要强调这样的实事：器官细胞的增殖与形态的建立之间、器官内特定命运的细胞决定与细胞间相互作用之间都是相互独立的。近年来的研究，尤其是在果蝇中的研究表明，Hippo 信号转导途径是调控器官大小的一个重要机制[1-3]。实际上，Hippo 信号通路也参与控制了哺乳动物器官的大小[5]。但是 Hippo 信号似乎在控制器官大小过程中起重要作用，而并不参与调控器官的形态构建。此外，虽然有证据表明 Hippo 可能调控细胞增殖的停止，这种作用是如何实现的尚不清楚，举例来说，Hippo 是不是器官稳态维持所必需的尚不得而知。

总之，器官大小和形态调控是一个复杂的过程。虽然近年来在某些方面有一定的进展（如 Hippo 信号通路的发现），但是离我们完整认识这个重要的调控还有很远的距离。其中尚未解决的问题包括：器官中细胞的增殖与形态的发生有什么关系？（如前述的肝脏再生现象如何解释？）为什么有的器官稳态容易维持而有的却几乎不可能？（如心脏、肾脏和肝脏相比）除了 Hippo 信号通路外，其他控制信号是什么？这些信号通路之间的相互作用关系如何？器官中细胞的极性是如何产生和维持的？它与器官形态的建立有什么联系？这些都是发育生物学长期未能解决的难题。

参 考 文 献

[1] Kango-Singh M，Singh A. Regulation of organ size：insights from the *Drosophila* Hippo signaling pathway. Dev. Dyn. 2009，238：1627-1637

[2] Pan D. Hippo signaling in organ size control. Genes Dev，2007，21：86-897

[3] Shingleton AW，Frankino WA，Flatt T，et al. Size and shape：the developmental regulation of static allometry in insects. Bioessays，2009，29：536-48

[4] Halder G，Callaerts P，Gehering WJ. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the *eyeless* gene in Drosophila. Science，1995，267：1788-1792

[5] Dong J，Feldman G，Huang J，et al. Elucidation of a universal size-control mechanism in *Drosophila* and mammals. Cell，2007，130：1120-1133

撰稿人： 张　建

中国科学院遗传与发育生物学研究所

审稿人： 孟安明　黄　勋

两栖类动物肢体再生的位置信息是什么？

What Are Positional Information for Amphibian Limb Regeneration?

早在200多年前，科学家就发现许多后生动物具有组织器官的再生能力。之后，许多生物学家对以蝾螈为代表的两栖类成年个体肢体截肢后再生的过程和机理进行了深入的研究，寄望借助相关的理论和知识，使人类能够再生失去的手臂或大腿。

将两栖类的肢体截除一部分之后，1～2天内创口周边的表皮细胞向创口表面迁移，覆盖创口形成单细胞层表皮，再通过细胞增殖形成顶端外胚层帽（apical ectodermal cap），其特性和功能类似于正常发育的肢芽顶端外胚层嵴（apical ectodermal ridge）。在随后的几天里，顶端外胚层帽下软骨细胞、肌细胞、神经髓鞘细胞等发生去分化作用而成为间质细胞，它们构成再生胚基（regeneration blastema）。再生胚基间质细胞通过增殖、再分化、逐渐形成失去的肢体结构[1]。有研究显示，通过去分化产生的间质细胞的分化潜能是有限的，大多只能重新分化为原来类型的细胞，如肌细胞去分化后产生的间质细胞能再分化为肌细胞而不能分化为软骨或表皮，软骨细胞去分化后可再分化为软骨细胞而产生肌细胞，血管内皮细胞去分化后产生的间质细胞只能再分化为血管内皮软骨细胞，皮肤细胞去分化后可分化为软骨细胞但不能分化为肌细胞[2,3]。

脊椎动物前肢从近端（离躯体最近的一端）到远端（离躯体最远的一端）可依次分为肩区、臂区、前臂区、腕区、掌指区。蝾螈肢体截肢后再生过程中最奇妙的现象是，再生只重新长出被截除的所有区域，而不会长出未被截除的区域。例如，从臂区截肢，则会依次再生出截口以远的肢体部分（包括前臂区、腕区、掌指区）；如果从腕区截肢，则再生出掌指区（图1）。显然，肢体沿着近-远轴线存在着特殊的位置信息，这种位置信息可以被肢体自身所识别[4]。肢体有表皮细胞、骨细胞、软骨细胞、肌细胞、血管细胞、神经细胞等，它们承载了位置信息吗？现有的研究发现，并非所有类型的细胞都承载了位置信息，如软骨细胞含有位置信息、而神经髓鞘细胞不含位置信息[3]。

另一些重要问题是：位置信息的分子本质是什么？它是如何形成和被翻译的？研究表明，从不同区域截肢后长出的再生胚基细胞的黏附特性是不同的。例如，将腕部再生胚基移植到臂区截口上，再生肢体的臂部至腕部的细胞主要来自受体（臂区截口内）细胞，而掌指区细胞来自于移植的腕部再生胚基细胞，说明受体细胞和供体细胞缺少亲和性；将近端再生胚基和远端再生胚基取出放在一起离体培养，近端再生胚基组织将会去包裹远端再生胚基组织，说明二者的黏附性是不同的。不同

位置的再生胚基细胞的黏附性不同，可能只是位置信息的翻译产物。Maden 的研究发现，用维生素 A 的代谢产物视黄酸处理再生胚基，可以改变其位置信息，使远端再生胚基长出重复的近端肢体结构[5,6]。然而，迄今没有发现视黄酸在肢体内沿近-远轴线的不均匀分布，无法确定它是否是内在的位置信息载体。da Silva 等人鉴定出一个在蝾螈肢体再生中受视黄酸正向调控的基因 *prod 1 /CD 59*，它编码一种细胞表面蛋白，其分布从近端向远端的分布从高到低[7]；在近端再生胚基的远端区域过量表达 Prod1 的细胞，其子代细胞不出现在远端的掌指区，而是出现在更近端的结构中，说明其过量表达改变了细胞的近远端特性[8]。然而，目前还缺乏精细的实验，来证明改变 Prod1 的表达量可以改变整个再生胚基的再生能力。在再生胚基中转录因子 Meis1a 和 Meis2a 的表达也受视黄酸的调控，抑制它们在腕部再生胚基中的表达，用视黄酸处理后不能再诱导近端肢体结构的形成，说明它们也可以调控再生胚基的近远端特性[9]。但是，迄今尚不能确定 Prod1 和 Meis1a/Meis2a 是否直接提供了再生胚基的位置信息，或者它们只不过是再生胚基位置信息的接收者和翻译者。因此，科学家们还需要继续寻找提供肢体位置信息的关键分子，进而弄清在肢体再生过程中其激活的信号调控网络，相关研究成果对于哺乳动物器官再生的研究具有重要的指导意义。

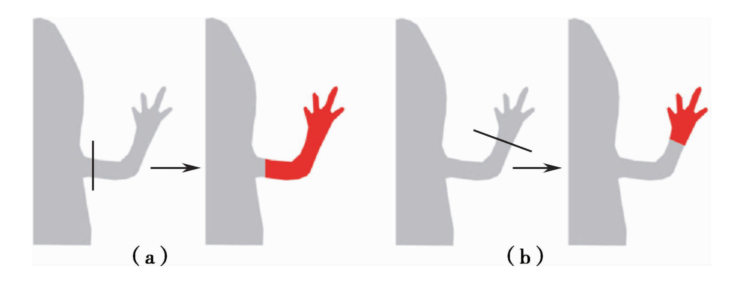


图 1　蝾螈前肢切除后的再生

图示躯体前端的半侧，线条为截肢位置，黑色为再生的肢体部分。(a) 从臂区截肢，从截口处依次再生出缺失的臂区、前臂区、腕区、掌指区；(b) 从腕区截肢，从截口处再生出掌指区

参 考 文 献

[1] Nye HL，Cameron JA，Chernoff EA，et al. Regeneration of the urodele limb：a review. Dev Dyn，2003，226：280-294

[2] Sobkow L，Epperlein HH，Herklotz S，et al. A germline GFP transgenic axolotl and its use to track cell fate：Dual origin of the fin mesenchyme during development and the fate of blood cells during regeneration. Dev Biol，2006，290：386-397

[3] Wolpert L. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. J Theor Biol，1969，25：1-47

[4] Kragl M，Knapp D，Nacu E，et al. Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. Nature，2009，460：60-65
[5] Maden M. Vitamin A and pattern formation in the regenerating limb. Nature，1982，295：672-675
[6] Maden M. The effect of vitamin A on the regenerating axolotl limb. J Embryol Exp Morphol，1983，77：273-295
[7] da Silva SM，Gates PB，Brockes JP. The newt ortholog of CD59 is implicated in proximodistal identity during amphibian limb regeneration. Dev Cell，2002，3：547-555
[8] Echeverri K，Tanaka EM. Proximodistal patterning during limb regeneration. Dev Biol，2005，279：391-401
[9] Mercader N，Tanaka EM，Torres M. Proximodistal identity during vertebrate limb regeneration is regulated by Meis homeodomain proteins. Development，2005，132：4131-4142

撰稿人：孟安明
中国科学院动物研究所
审稿人：张　建　罗凌飞

为什么肝脏能够再生？

Why Is the Liver Regenerable?

肝脏是人类腹腔中最大的器官，也是重要的消化器官，它具有分泌胆汁、消化和代谢脂肪、储存和过滤血液、合成和分泌氨基酸、合成和储存糖原、解毒及排除废物、分泌人血白蛋白以维持体内环境的稳定等多种重要功能。肝脏虽然发挥众多功能，它却具有极强的再生恢复能力。肝脏的一部分切除后再生是肝脏为满足其功能需求在重量和体积上的恢复。通常来说，肝脏经手术切除三分之二的大鼠或小鼠可在 7～10 天内恢复 100％的肝脏重量，同样情况的狗需要 6～8 周，人类则需要 3～4 个月[1,2]。人类肝脏是少数可以在只剩 25％情况下再生的器官之一，这是心脏、胃、肠、胰腺等其他脏器所不具备的独特之处。那么，肝脏再生的细胞生物学过程是怎样的？肝脏为什么具有其他器官所不具备的再生能力？调控肝脏再生的分子机制又如何？

首先需要回答的问题是，肝脏再生主要是由哪种类型的细胞完成的？肝脏再生经历了怎样的细胞生物学过程？肝脏再生与传统意义的再生有所不同。传统意义的再生包括形态和功能的恢复，例如蝾螈的肢体被切除后的再生，皮肤、肌肉、手指等形态和功能都得到恢复，在此再生过程中位于切除创口的具有广泛分化潜能的多能细胞可能发挥了重要作用[3]；而肝脏的再生并非肝脏形态恢复，而是体积和功能的恢复，那么在肝脏再生过程中发挥主要作用的是否也是具有分化潜能的多能细胞或者干细胞呢？研究表明，在小鼠中，受到四氯化碳伤害或部分切除肝脏的再生是由正常的肝细胞分裂增殖来实现的，多能细胞的分裂和肝向分化在此再生过程中并未被激活[4,5]。在正常肝脏中的肝细胞虽然是静默不分裂的，却有着令人吃惊的分裂增殖能力。连续移植实验甚至发现肝细胞可以连续分裂 80 代[6]，这与理论计算所得出的单个肝细胞可分裂增殖形成整个肝脏是一致的。然而，并非在任何情况下的肝脏再生都是通过肝细胞的分裂增殖来实现的。例如，在小鼠中，若肝脏受到半乳糖胺的伤害，具有多能性的肝脏卵圆细胞（oval cell）的复制将被激活，卵圆细胞将增殖并分化为肝细胞[7]，而在这个再生过程中，正常肝细胞本身的复制增殖并未发生。在人体中，特别是在严重肝衰竭或晚期肝硬化患者体内，肝细胞的复制增殖能力被认为已接近枯竭，此时病人肝脏中类似于小鼠肝脏卵圆细胞的多能性细胞成为了肝细胞再生的主要来源[8,9]。因此，在哺乳动物中的研究代表了现在绝大多数人的观点，即不同类型的肝脏损伤或切除之后，实现肝脏再生的主要细胞类型也不尽相同。

回到核心问题，为什么肝脏能够再生？调控肝脏再生的分子机制又如何？现有的对肝脏再生的分子调控机制的理解几乎完全来自遗传修饰小鼠（基因敲除或转基因小鼠）中的肝脏三分之二切除后再生研究，发现许多基因敲除小鼠的肝脏再生能力都受损。迄今已知的肝脏再生调控因子主要包括三类：细胞因子、生长因子和代谢调控因子[5]。在肝脏部分切除后的半小时到数小时内，细胞因子成为首先的响应因子而开始异常表达，而这些细胞因子的功能现在通常被认为是刺激肝细胞从静默的 G_0期进入 G_1期。肿瘤坏死因子（TNF）是目前发现最早的响应因子，它会在肝脏非实质细胞中激活 NF-κB、进而诱导 TNF 和白细胞介素-6（IL-6）的表达，而 IL-6 被认为是作用于肝细胞上的 IL-6 受体、在肝细胞中活化 STAT3、进而激活一系列下游因子而促使肝细胞进入 G_1期。与细胞因子相比，生长因子对于肝脏切除的响应相对较慢，它们的功能主要是推动已进入 G_1期的肝细胞跨越 G_1晚期的限制点、并进一步推动完整的细胞分裂周期，使得肝细胞发生分裂增殖。目前发现的在肝脏再生过程中发挥比较重要功能的生长因子有肝细胞生长因子（HGF）、表皮生长因子（EGF）、肝素结合的类表皮生长因子（HB-EGF）、转化生长因子 α（TGFα）等。肝脏再生的程度受到非常精确的调控，而这种调控的标准就是机体对肝脏功能的需求，代谢调控因子在此调控过程中就可能发挥了重要功能。虽然目前关于代谢信号调控肝脏再生的详细分子机制还了解不多，但肝细胞增殖信号和营养能量水平最有可能的协调对话点就在于蛋白质的翻译水平[10]。

虽然迄今为止对于调控肝脏再生的分子机制研究已经取得了可喜的进展，但目前采用的研究模型和研究方法比较有限，还有许多问题有待进一步深入研究。第一，其他一些组织，如胰岛 β 细胞的再生主要也是通过 β 细胞的自我分裂增殖来完成的[11]，为什么这些组织并不具备肝脏那样强大的再生能力？肝脏特有的强大再生能力究竟是以肝脏中哪些特殊分子或可被激活的特殊信号途径为基础的？这个问题，是回答“为什么肝脏能够再生”的关键，但迄今为止还没有确切答案。第二，不同类型的损伤（如肝脏部分切除和晚期肝硬化）的肝脏再生是分别通过肝细胞分裂增殖和多能细胞分化来实现的，那么是什么分子机制决定了肝脏采用不同的再生途径？在其他动物模型中，更大程度（超过 75%）的损伤后肝脏能否进行再生？如果能够再生，又是通过什么方式？建立在活体中连续观察记录肝脏再生过程的方法和实验系统是十分必要的。第三，在迄今研究得最为透彻的调控肝脏再生的 TNF-NF-κB-IL-6-STAT3 途径和生长因子中，也还有众多的问题有待回答。例如，STAT3 的哪些下游因子是促使肝细胞进入 G_1期的关键因子？肝脏部分切除后是什么激活了 TNF 的表达？虽然免疫系统是候选答案之一，但其发挥作用的关键性和直接性都还有待进一步深入研究。第四，表观遗传调控机制、小 RNA、非编码 RNA 等是否在肝脏再生过程中发挥重要功能？发挥功能的机制又是什么？第五，如前所述，现有的对肝脏再生的分子调控机制的理解几乎完全来自反向遗传学方

法——基因敲除小鼠中的再生研究，那么现在还未被敲除的基因又会在肝脏再生中发挥怎样的功能？除三分之二切除后的小鼠肝脏再生模型外，建立其他合适的肝脏再生动物模型，然后利用正向遗传学手段有针对性地筛选获得肝脏再生调控因子，对更深入地理解“为什么肝脏能够再生”将有很大帮助。

参 考 文 献

[1] Bucher N. Regeneration of mammalian liver. Int Rev Cytol，1963，15：245-300

[2] Marcos A，Fisher RA，Ham JM，et al. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. Transplantation，2000，69：1375-1379

[3] Tanaka EM. Regeneration：if they can do it，why can't we? Cell，2003，113：559-562

[4] Farber JL，Gerson RJ. Mechanism of cell injury with hepatotoxic chemicals. Pharmacol Rev，1984，36：71S-75S

[5] Fausto N，Campbell JS，Riehle KJ. Liver regeneration. Hepatology，2006，43：S45-S53

[6] Overturf K，al-Dhalimy M，Ou CN，et al. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. Am J Pathol，1997，151：1273-1280

[7] Dabeva MD，Shafritz DA. Activation，proliferation，and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the *D*-galactosamine model of liver regeneration. Am J Pathol，1993，143：1606-1620

[8] Libbrecht L，Roskams T. Hepatic progenitor cells in human liver diseases. Semin Cell Dev Biol，2002,13：389-396

[9] Fujita M，Furukawa H，Hattori M，et al. Sequential observation of liver cell regeneration after massive hepatic necrosis in auxiliary partial orthotopic liver transplantation. Mod Pathol 2000，13：152-157

[10] Martin KA，Blenis J. Coordinate regulation of translation by the PI3-kinase and mTOR pathways. Adv Cancer Res，2002，86：1-39

[11] Dor Y，Brown J，Martinez OI，et al. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. Nature，2004，429：41-46

撰稿人： 罗凌飞

西南大学

审稿人： 孟安明　张　建

原始生殖细胞是如何产生的？

How Primordial Germ Cells Are Generated?

生殖质在多种动物的原始生殖（种质）细胞的产生中起重要作用。但是，在哺乳动物（包括人）的卵母细胞中是否存在生殖质？这是一个困扰了生物学家多年的问题，至今仍无定论，也许将来你自己能够找到答案。

生殖质的概念最初由德国生物学家奥古斯特·魏斯曼（1834～1914）于1893年提出，用于解释多细胞物种性状遗传的机制。他认为在有性生殖动物个体中有两类细胞：种质细胞（germ）和体细胞（soma）各司其职。种质细胞的“生殖质”可以代代相传，具有“保种”功能；而体细胞不参与遗传信息的代际传递。他还认为，种质细胞在胚胎发育过程中通过产生配子（gamete）的形式再生，继续拥有全部的“生殖质”；部分种质细胞则分化成体细胞，不同功能的体细胞只获得部分的“生殖质”，终末分化的体细胞仅保有少量的与之功能相适应的“生殖质”，因此体细胞的分化是通过“生殖质”的渐进丢失实现的。这种遗传信息只能从“种质细胞”到“体细胞”单向流动（所谓的魏斯曼障碍）。这套遗传理论在现在看来有些荒谬，但是它在进化生物学史上却有着十分重要的意义。恩斯特·迈尔（1904～2005）甚至认为魏斯曼对进化生物学的贡献仅次于查尔斯·达尔文。其主要原因有三：其一，在19世纪中晚期，以“获得行遗传”为代表的“软遗传”（soft inheritance）理论还很盛行。在“种质”理论的指导下，魏斯曼对连续二十代、总共2000多只大鼠进行了尾巴切除实验，证明了外界对生物个体性状上的影响并不可遗传，给了拉马克学派“获得性遗传”理论最致命的一击。其二，虽然魏斯曼本人对孟德尔的遗传理论讳莫如深，但是他的追随者却意识到“种质”与孟德尔遗传物质之间的某种联系，为再发现被忽略了近三十年的孟德尔理论做出了重要贡献，进而为达尔文进化论提供了“硬遗传”（hard inheritance）证据。其三，在观察种质细胞分化成配子过程中，魏斯曼首先指出了减数分裂的重要性；配子成熟过程中的减数分裂是维持染色体倍数在传代中恒定的机制。

因此，魏斯曼的种质理论并没有全部被扔进历史的垃圾桶。种质细胞和生殖质这些概念仍常见于当今文献，只是现代生物学赋予了它们新的含义：生殖质仅指决定种质细胞命运的母源物质，获得生殖质的细胞将成为原始生殖细胞（primordial germ cell，PGC）（即将来能够发育为精子或卵子的细胞）。在一些典型的镶嵌型发育物种的成熟卵母细胞中，生殖质通常聚集在卵母细胞的特定部位，如果蝇卵后端的极区颗粒（polar granule），线虫的P granule，非洲爪蟾的植物极细胞膜下的种

质颗粒（germinal granule），都是典型的含生殖质的胞内复合物。生殖质含有大量的核糖核酸和碱性蛋白质，包括 *Vasa*、*Dazl*、*Tudor* 等母源基因，它们直接决定种质细胞的产生。而在有尾两栖类如蝾螈的 PGC 发育过程中，迄今没有发现母源物质的直接参与。蝾螈的原始种质细胞要到尾芽胚中晚期才出现，它们的祖细胞可以追溯到早期原肠胚植物极腹部中胚层。该区域部分中胚层细胞受周围内胚层组织分泌的信号的影响分化成原始种质细胞。据推测，这些分泌信号是在合子基因组的控制下合成的，它们甚至可以从外胚层细胞中诱导产生种质细胞。因此，在这类物种中，种质细胞的产生主要是通过胚胎组织间的相互作用决定[1-4]。

那么，哺乳动物究竟是采取哪种方式决定其种质细胞的命运呢？这方面的研究主要来源于模式哺乳动物小鼠。小鼠的成熟卵母细胞中母源物质的分布较均匀，受精后 2-细胞期合子基因就开始转录，并伴随着大规模的母源 mRNA 降解。人为地扰动卵母细胞质的分布并不影响胚胎以及种质细胞的发育。8-细胞期胚胎的各卵裂球具有相同的发育潜能，着床前胚泡内细胞团具有多潜能，各卵裂球的分化谱系要到着床后才变得明显。在胚胎发育的第 6～7 天，在尿囊原基附近的上胚层后端，一群表达 Stella（又名 Dppa3 或 Pgc7）和 Oct4（又名 Pou5f1）分子标记的细胞具有发育成种质细胞的潜能，为原始生殖细胞 PGC。在随后几天里，PGC 开始定向迁徙，于第 11 天达到并进入生殖脊，在此增殖（或凋亡）、分化和成熟。因此，PGC 的决定只是种质细胞生物学过程中的重要一环。如下问题也是相关领域的研究热点：

1）PGC 在迁徙过程中如何保持其谱系特征：控制 PGC 谱系发育的遗传学程序的全貌是什么？特征性的表观遗传学修饰又是如何稳定这一特定的遗传学控制程序？

2）为什么 PGC 能够找到它们的归属（生殖脊）？那些因迷失方向而没有到达生殖脊的 PGC 又是如何被清除？

3）途经组织微环境在维持 PGC 身份中起什么作用？PGC 迁徙过程中与周围体细胞发生什么样的相互作用？

4）生殖脊体细胞又是如何控制 PGC 的增殖、凋亡与分化？

5）PGC 与 ESC 都具有多潜能，如何在体外实现 PGC 与 iPS 或者 ESC 之间的相互转换？

果蝇、斑马鱼、鸡和小鼠中的研究分别显示，PGC 在自身和周围组织提供的排斥性和吸引性信号以及 SCF（stem cell factor，steel）在控制种质细胞的迁移（速度和方向性）、生存和凋亡等过程中都有重要作用。迁徙中的小鼠 PGC 还表达另外两种标记分子 Nanog（Enk-2）和 Sox2，但是人类 PGC 中并不表达 Sox2。*Stella*、*Oct 4* 和 *Nanog* 同时也是母源基因，表达于成熟的卵母细胞。但是它们在原肠胚期 PGC 中的特异表达受 Prdm1（又名 Blimp1）、Prdm14、KDM1（赖氨酸

去甲基化酶 1）和 Prmt5（精氨酸甲基化转移酶 5）等多种组蛋白修饰酶的控制[5]。遗传学研究显示，正常的 PGC 形成需要胚外组织尿囊的存在；尿囊细胞通过分泌生长因子 BMP4 作用于临近的上胚层后端区域的体细胞，激活 Prdm1 和 Prdm14，调控 *Stella* 和 *Oct 4* 的表达，维持 PGC 谱系的发育，而上胚层后端表达的 Wnt3a 在这一过程具有协同作用[6]。不仅如此，在培养液中添加 BMP4 和 Wnt3a 还可以将具有响应性的上胚层细胞和胚胎干细胞转化成 PGC[7]。综上所述，决定小鼠种质细胞命运的特定遗传程序和相应的表观遗传控制机制，都在一定程度上受组织与细胞间的相互作用调控。因此，小鼠和有尾两栖类动物类似，没有发现母源物质直接地参与种质细胞命运的决定。最近关于诱导多能干细胞（iPS）全能性验证实验的结果[8]，也间接地支持小鼠种质细胞的决定不需要母源物质的直接参与。因为在成功的四倍体互补实验中，新生个体的全部种质细胞都来自 iPS，而 iPS 又是从成纤维体细胞转分化而来。这些实验与体细胞核移植克隆技术不同的是，母源物质的任何直接影响可能仅限于为 iPS 发育提供营养支持的胚胎外四倍体组织的发育当中。

但是问题并没有完全解决。首先，目前还没有直接的遗传学证据排除 *Stella*、*Oct 4* 、*Dazl*、*Nanog* 等母源基因在小鼠种质决定中的功能；而体外实验表明，Dazl 具有诱导人类胚胎干细胞发育成 PGC 的功能[9]。其次，与镶嵌型发育的动物卵母细胞生殖质形成和定位密切相关的细胞器 Balbiani body，也在哺乳动物包括人类卵母细胞成熟过程中出现，仅是在卵母细胞成熟的中晚期发生解聚。因此，有必要进一步研究 Balbiani body 在哺乳动物种质细胞决定中的功能。进行这两项研究，需要更有效和快捷的母源基因功能研究手段。第三，针对 iPS 的四倍体互补和二倍体嵌合等实验情况，我们也不能排除如下可能：干细胞因子 Oct4、Nanog、Klf5、c-Myc 等在将体细胞逆转分化成全能干细胞的过程中，同时激活了生殖质的表达。这些基因也的确在生殖脊体细胞和成熟中的卵母细胞中有表达。虽然有很多的不确定因素可能导致大量的 iPS 细胞不能通过二倍体嵌合实验和四倍体互补实验而生产健康的后代，但是，种质细胞发育缺陷是一个值得探讨的课题。第四，非编码 RNA 在生命活动基本过程中的功能正逐渐被揭示，如 piRNA 和其他 miRNA 在小鼠卵母细胞成熟中参与调节可编码 RNA 的代谢；*Prdm 1* 是 Let-7 miRNA 的调节靶基因之一，而后者的活性也受到母源基因 *Lin 28* 的调控[10]，等等。因此，有充分的理由相信，探讨 RNAi 在哺乳动物种质细胞决定中的作用是一个有前途的研究方向。

认识人类种质细胞的发育过程和分子机理对于理解和防治不育、不孕等生殖疾病有重要的意义，但迄今积累的相关知识非常有限。由于以人为对象的研究涉及伦理问题和取材困难，运用与人类更为接近的灵长类动物进行干细胞和生殖质、甚至更多基本生物学问题的研究势在必行。

参 考 文 献

［1］ Matova N，Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis. Dev Biol，2001. 231（2）：291-320

［2］ Johnson AD，et al. Evolution of predetermined germ cells in vertebrate embryos：implications for macroevolution. Evol Dev，2003，5（4）：414-431

［3］ Raz E. Primordial germ-cell development：the zebrafish perspective. Nat Rev Genet，2003，4（9）：690-700

［4］ Strome S and Lehmann R. Germ versus soma decisions：lessons from flies and worms. Science，2007，316（5823）：392-393

［5］ Bikoff EK and Robertson EJ. One PRDM is not enough for germ cell development. Nat Genet，2008，40（8）：934-935

［6］ Ohinata Y，et al. A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. Cell，2009，137（3）：571-584

［7］ Wei W，et al. Primordial germ cell specification from embryonic stem cells. PLoS One，2008，3（12）：e4013

［8］ Zhao XY，et al. iPS cells produce viable mice through tetraploid complementation. Nature，2009，461（7260）：86-90

［9］ Kee K，et al. Human DAZL，DAZ and BOULE genes modulate primordial germ-cell and haploid gamete formation. Nature，2009，462（7270）：222-225

［10］ West JA，et al. A role for Lin28 in primordial germ-cell development and germ-cell malignancy. Nature，2009，460（7257）：909-913

撰稿人：陶庆华

清华大学

审稿人：孟安明　孙青原

卵泡的形成与发育是如何调节的？

How the Folliculogenesis Is Regulated?

卵泡（ovarian follicle）是构成卵巢结构和功能的基本单位，其包括生殖细胞（即卵母细胞）、颗粒细胞和卵泡膜细胞[1]。卵泡数量的多少决定了雌性动物生殖能力的强弱。

哺乳动物的卵巢是在胚胎期由位于中肾腹侧的生殖嵴发育而来的，而卵巢内的生殖细胞最早是由囊胚内细胞团的原始外胚层细胞演变而来[2]。生殖细胞的前体称作原始生殖细胞（primordial germ cell，PGC），首先出现在尿囊基处，其后在卵黄囊和后肠内胚层处，进而沿后肠壁经过背肠系膜向尿生殖嵴迁移，最终到达生殖嵴（genital ridge）。原始生殖细胞系的形成和调控机制至今仍不清楚，现有的研究表明可能受到骨形态发生蛋白（BMP）、转录因子 OCT-4、干扰素诱导基因家族 Frailis、Smad1 和 Stella 等分子调控。在小鼠中，PGC 首次出现在妊娠约 7.5 天[3]，大约在 11.5～13.5 天到达生殖嵴[4]。PGC 从开始出现到进入生殖嵴后的过程中都会进行有丝分裂增殖，进入生殖嵴后，处于减数分裂前的雌性生殖细胞通常称为卵原细胞（oogonia）。如果人们了解到原始生殖细胞分化形成的机制，将大大推进当前由干细胞体外诱导分化形成生殖细胞的研究进程，从而为人类生殖障碍和珍稀动物的保护提供重要的理论和应用基础。

生殖细胞的分裂有一个重要的特点，即需要进行两次减数分裂。卵原细胞迁移到生殖嵴后被包裹入皮质索，在其中成簇存在，外周被众多卵巢体细胞所包裹。此时处于有丝分裂阶段的卵原细胞大量增殖，高速有丝分裂导致细胞质不完全分裂，产生了生殖细胞的合胞体结构。合胞体结构中的生殖细胞由细胞间桥彼此相连从而进行同步的分裂。当卵原细胞停止有丝分裂时，合胞体结构建立完成。生殖细胞即开始进入第一次减数分裂，这一过程通常发生在胎儿出生前。在小鼠中，卵原细胞开始进入减数分裂大约发生在妊娠 13.5 天，此时卵巢内生殖细胞获得形成原始卵泡的能力已经决定[5]。进入减数分裂的雌性生殖细胞被称为卵母细胞，刚形成的卵母细胞为初级卵母细胞，其第一次减数分裂会停滞在分裂前期的核网期（或称双线期），根据动物种类不同停滞的时间长达几十天到几十年不等，其中原因至今不明。直到青春期时，在促性腺激素的作用下停滞状态才开始恢复。

停滞在第一次减数分裂的卵母细胞随即形成原始卵泡。原始卵泡在形态上的特点是由多个单层扁平的前颗粒细胞包裹一个卵母细胞所构成的功能单位。原始卵泡的形成过程，指的是卵巢内体细胞中的前颗粒细胞侵入并包裹阻滞于双线期的卵母

细胞，而最终形成由完整的基底层包裹的原始卵泡的过程，这个过程被定义为卵泡发生（folliculogenesis）（图 1）。

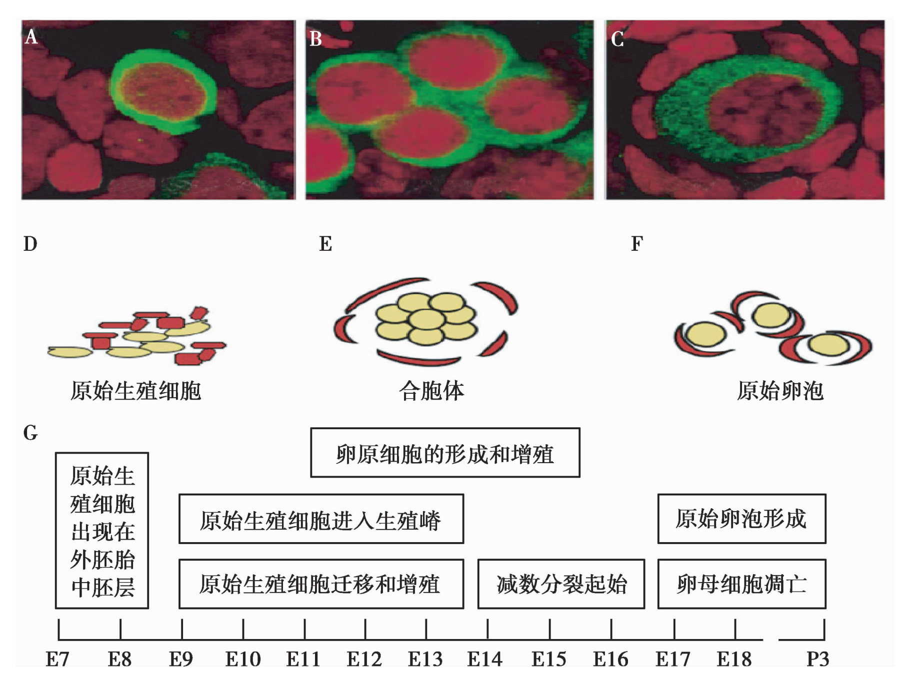


图 1　小鼠卵巢内原始卵泡的形成过程主要事件及时间

A～F 为典型的原始卵泡形成过程各个阶段的免疫荧光染色，其中绿色标记为生殖细胞细胞质，可见明显的合胞体结构以及随后形成的原始卵泡。G 为发育过程的时间表以及结构示意图。坐标中 E：胚胎日龄；P：出生后日龄（改自 [6]）

由于原始卵泡形成的数量（即卵泡库）实际上决定了雌性动物一生的生殖能力，因此科学家们对这一问题非常重视，遗憾的是到目前为止人们还不能解释为什么胚胎期卵巢中几万到几百万个生殖细胞最终只有 1/3 到 1/10 能够形成卵泡以及发育到什么程度的生殖细胞才能最终形成卵泡。经过近一个世纪的研究，发现很多分子参与了原始卵泡形成这一重要生理事件，如：生殖细胞系因子 α（Figα）、新生卵巢同源基因（*Nobox*）、精卵发生特异性螺旋转角螺旋 1（*Sohlh*1）、Lim 同源基因 8（*Lhx 8*）、箭头盒子 L2（*Foxl 2*）、极性蛋白 PAR6 以及 Notch 信号通路等。原始卵泡形成过程中，需要卵母细胞和卵巢中的体细胞互作。有研究表明原始卵泡形成过程中生殖细胞占据了主导的作用[7]，只有特异性表达极性蛋白 PAR6 的卵母细胞才能被前颗粒细胞包裹形成原始卵泡[8]；卵母细胞可能通过某种信息使体细胞获得包裹生殖细胞的能力[5]。在原始卵泡形成的过程中，卵母细胞与前颗粒细胞之间的联络极其重要，如果打断它们之间的间隙连接，卵巢中原始卵泡形成的数

量就会减少[8]。同样，卵母细胞与体细胞的同步发育对原始卵泡的形成也至关重要[5]。另外，体内环境也会影响原始卵泡的形成，大多数哺乳动物的原始卵泡形成开始于出生前后一周内，为什么会是这样？考虑到出生前后的主要内分泌变化，特别是母体内高水平的雌激素和孕激素的变化，科学家们自然想到是否这一变化导致了卵巢内特定信号系统如 Notch 等信号通路，参与了原始卵泡的形成过程。由于，进入减数分裂的卵母细胞必须与卵巢体细胞互作形成卵泡后才能存活并进一步发育。与此同时，大量的卵母细胞也因无法被卵巢体细胞包裹而发生凋亡，从而最终确定了出生后原始卵泡库。但为什么卵巢中众多的体细胞不包裹生殖细胞而让那么多生殖细胞走向死亡？至今仍是一个谜。这可能是动物自我保护的机制所在。的确，在生殖细胞减数分裂过程中会发生染色体的联会重组和分离等复杂事件，一旦发生错误将会对后代造成严重的影响，人类的唐氏综合征就是由于卵母细胞染色体的分离错误而产生的。动物在进化过程中可能就是通过某种目前尚不清楚的机制来保证不符合条件的卵母细胞不能形成卵泡。反过来，如果人们能够了解原始卵泡形成的机制，就可以通过现代生物技术，促进卵泡的形成从而提高动物的繁殖效率。

原始卵泡库一旦建立，原始卵泡就逐渐依次离开卵泡库开始生长，贯穿动物整个生殖周期。原始卵泡生长启动后，卵母细胞周围的单层扁平的前体颗粒细胞逐渐变成单层立方形颗粒细胞，形成初级卵泡。随着卵泡进一步发育，颗粒细胞不仅体积增大，数量也会不断增多，在卵母细胞周围形成多层分布，形成次级卵泡。在次级卵泡的早期发育阶段，颗粒细胞外层出现许多平行于基膜的结缔组织纤维，即膜层。同时在卵母细胞外形成了由紧贴卵母细胞的颗粒细胞和卵母细胞共同分泌的一层糖蛋白，称为透明带（zona pellucida）。在随后的卵母细胞发育进程中透明带不断增厚。随着次级卵泡的发育，膜层细胞分成两层：内膜细胞和外膜细胞，内膜细胞分化成膜间质细胞，外膜细胞分化成平滑肌细胞。膜细胞的发育还伴随着许多小血管的生成。在卵泡腔形成之前，一个完全生长的次级卵泡由五部分组成：一个被透明带包围的生长完全的卵母细胞，大约 9 层的颗粒细胞，一层基膜，一层内膜和一层外膜，在内膜中存在着丰富的毛细血管网[1]。次级卵泡进一步发育，卵泡细胞分泌的液体进入卵泡细胞和卵母细胞间隙，形成卵泡腔。随着卵泡液分泌量的增多，卵泡腔进一步扩大，卵母细胞被挤到一边，并被包围在一团颗粒细胞中，形成突于卵泡腔中的半岛，称为卵丘（cumulus oophorus）。其余的卵泡细胞则紧贴在卵泡腔周围，形成卵泡壁层颗粒细胞。在各种因子，主要是 FSH 的刺激下，一些有腔卵泡迅速生长发育，成为优势卵泡（dominant follicle），这一过程称为卵泡的选择。FSH 调节卵泡选择的基本机制是刺激颗粒细胞上 FSH 受体信号通路。优势卵泡的卵泡腔在短期内迅速增至最大，成为排卵前卵泡（preovulatory follicle），又称格拉夫卵泡（Graafian follicle）；格拉夫卵泡发育到最大体积时，卵泡壁变薄

并向卵巢外周移动，为排卵做好准备。在排卵前促性腺激素峰的作用下，绝大多数哺乳动物的卵母细胞恢复第一次减数分裂，排出第一极体，并随之阻滞在第二次减数分裂的中期，即MⅡ期，然后排卵。优势卵泡以外的一些卵泡由于没有足够的促性腺激素环境而逐渐地退化、凋亡并发生卵泡闭锁。排卵后进入雌性生殖道的卵母细胞受精后就开始恢复和完成第二次减数分裂，排出第二极体，形成合子，一个新的个体开始发育。

卵泡中的卵母细胞只有雌性动物进入青春期后在垂体分泌的促性腺激素的作用下才能够恢复第一次减数分裂进而成熟。由于只有成熟的卵母细胞才能够排卵和受精，因此科学家们十分重视卵母细胞成熟的机理研究。经过几十年的研究，虽然还不能完全揭示卵母细胞的成熟机理，但也取得了许多重要的结果。如证明促性腺激素通过包围卵母细胞的颗粒细胞上的受体，引起表皮生长因子的分泌，表皮生长因子通过其信号传导通路引起卵母细胞的成熟。下图是近十年来人们对促性腺激素引起卵母细胞成熟的可能信号通路[9]，包括促性腺激素与受体的结合、下游激酶的激活[10]、促卵母细胞成熟因子的释放、阻断抑制卵母细胞成熟因子的分泌等通路（图2）。

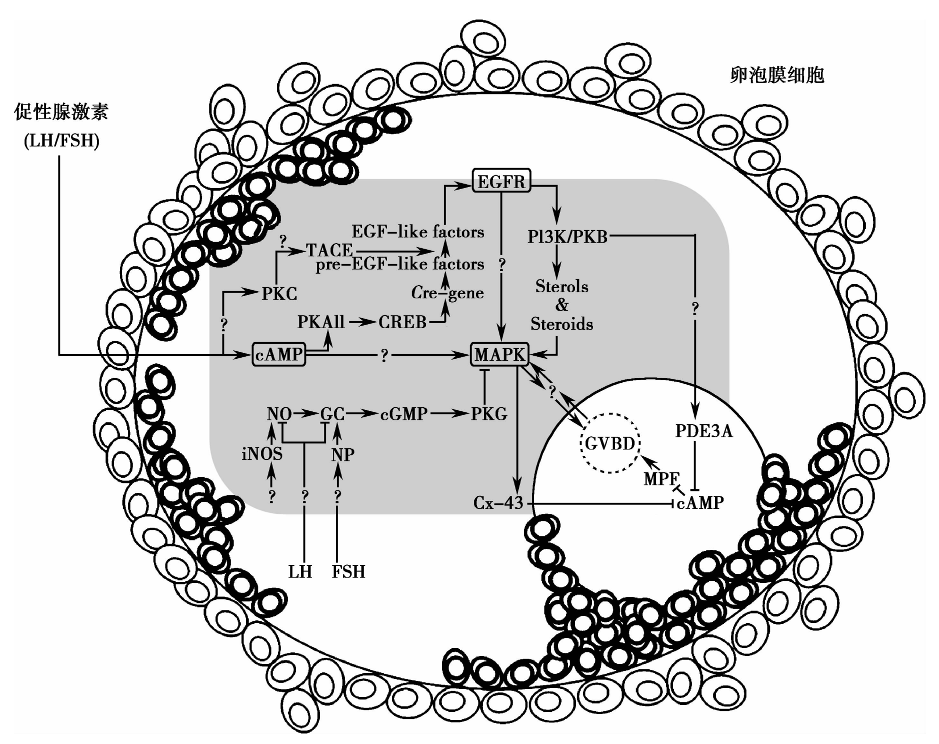


图2　促性腺激素诱导卵母细胞减数分裂恢复可能的信号通路[9]

可见，在生殖细胞从形成到最终成熟的过程中涉及许多复杂的调节机制，包括为什么动物卵巢中的生殖细胞的发育是有选择性的？为什么只有进入减数分裂双线

期的卵母细胞才能与卵巢体细胞形成卵泡？在原始卵泡库形成的过程中是卵母细胞还是体细胞主宰了卵泡形成的数量？为什么卵泡在成熟发育过程中只有个别的卵泡最终能够发育成为成熟卵泡？到底是哪种促性腺激素诱导了卵母细胞的最后成熟？两种促性腺激素在诱导卵母细胞成熟过程中到底如何协调的？它们的分子机制是什么等等问题还没有完全解决。这些问题的阐明无疑会大大促进人类生殖健康和动物的繁殖效率以及珍稀动物的保护，需要科学家和后来者的不懈努力。

参 考 文 献

［1］ 杨增明，孙青原，夏国良．生殖生物学．北京：科学出版社，2005

［2］ Best JL，Amezcua CA，Mayr B，et al. Identification of small-molecule antagonists that inhibit an activator：coactivator interaction. Proc Natl Acad Sci，2004，101：17 622-17 627

［3］ Ginsburg M，Snow MH，McLaren A. Primordial germ cells in the mouse embryo during gastrulation. Development，1990，110：521-528

［4］ Clark JM，Eddy EM. Fine structural observations on the origin and associations of primordial germ cells of the mouse. Dev Biol，1975，47：136-155

［5］ Lei L，Zhang H，Jin S，et al. Stage-specific germ-somatic cell interactiondirects the primordial folliculogenesis in mouse fetal ovaries. J Cell Physiol，2006，208：640-647

［6］ Pepling ME. From primordial germ cell to primordial follicle：mammalian female germ cell development. Genesis，2006，44：622-632

［7］ Mazaud S，Guigon CJ，Lozach A，et al. Establishment of the reproductive function and transient fertility of femalerats lacking primordial follicle stock after fetal gamma-irradiation. Endocrinology，2002，143：4775-4787

［8］ Wen J，Chen X，Zhang H，et al. PAR6，a potential marker for primordial follicular oocytes in mouse ovary. PloS ONE，2009，4：e7372

［9］ Zhang M，Ouyang H，Xia G. The signal pathway of gonadotropins-induced mammalian oocyte meiotic resumption. Mol Hum Reprod，2009，15：399-409

［10］ Ouyang H，Ning G，Wang S，et al. CREB up-regulated CYP51 expression involved in FSH-induced mouse oocyte maturation. Mol Endocrinol，2008，22：1682-1694

撰稿人：夏国良　毛冠平　王建为

中国农业大学

审稿人：孙青原　王红梅

哺乳动物受精时为什么只有一个精子穿入卵子？

How Monospermy Is Guarantied During Mammalian Fertilization?

精子和卵子是单倍体细胞，受精时一个精子入卵，与卵子的遗传物质结合，以保证合子重新恢复二倍体。在正常生理条件下，黄卵含量多的动物，例如鸟类、鱼类及许多无脊椎动物受精过程中有多个精子入卵，卵子中出现多个雄原核，但最终只有一个雄原核与雌原核结合，完成正常的胚胎发育，而其他雄原核在发育中途退化。哺乳动物是单精受精动物，如果一个以上精子入卵，通常会导致胚胎发育异常或发育阻滞，最终夭折。在人类，尽管有三倍体和四倍体婴儿出生的报道，但多倍体婴儿通常有严重的缺陷，在绝大多数情况下多精受精会导致自然流产。与其他动物相比，猪的多精受精率很高，体内多精受精率可达到 30％～40％，而体外多精受精率通常可超过 65％[1]。猪卵母细胞质具有一定的清除多余精子的能力，多精受精的卵子中有多个雄原核形成，但是如果多余的精子不干扰正常的雌雄原核结合，胎儿能发育到期。当有多个雄原核与雌原核结合时，可形成二倍体、三倍体、四倍体胎儿，甚至有的胎儿中既有二倍体细胞，也有四倍体细胞，但生下来的小猪中未发现多倍体现象。

阻止多精受精的机制主要有两方面。一种机制是雌性生殖道的初步筛选。尽管哺乳动物一次射出的精子数量可达数千万甚至上亿个，但最终通过生殖道达到受精部位的精子数量很少，通常精子与卵子数量比不超过 10∶1。阻止多精受精的另一个机制是卵子本身具有强烈地阻止多精受精的能力。参与阻止多精受精的是卵子特有的一种细胞器——皮质颗粒。精子穿入卵子后，卵子皮质颗粒的内容物很快释放到卵周隙中，使透明带发生修饰，几分钟内便会在透明带水平上阻止其他精子再进入卵子；与此同时，精子膜、卵质膜、皮质颗粒膜融合，可能改变了卵质膜的性质，从而在卵质膜水平上阻止多精入卵。根据动物种类不同，多精受精的阻止或主要发生在透明带水平上，或主要发生在卵质膜水平上，或二者兼有。但是透明带和卵质膜通过什么机制来完成这一使命目前了解的还不多。

哺乳动物精子入卵后，激发卵质膜下的皮质颗粒发生胞吐的过程，称为皮质反应。皮质颗粒的胞吐是“爆炸性的”，从精子入卵点开始迅速向四周扩散。可以认为卵母细胞是一种分泌细胞，但它与持续性分泌细胞不同的一点是，其整个生存周期中分泌活动仅发生一次，这一特性非常类似于受精过程中精子的顶体反应。至于卵子皮质反应的机理，目前主要有两种观点。一种观点认为，皮质反应的发生是一个卵质膜受体介导过程，通过活化 G 蛋白或酪氨酸蛋白激酶，激活磷脂酰肌醇信

号通路，导致内源性 Ca^{2+} 的释放；同时，DAG 激活蛋白激酶 C（PKC），最终导致皮质颗粒膜与卵质膜融合，发生皮质反应。另一种观点认为，精子入卵时带入可溶性的卵子激活因子，从而诱发皮质反应的发生[2]。

皮质反应后胞吐到卵周隙中的皮质颗粒内容物，引起透明带糖蛋白发生生化和结构变化，从而阻止多精入卵。多种动物包括人卵子透明带都有三种糖蛋白（ZP1、ZP2、ZP3），其中 ZP3 和 ZP2 分别是精子的初级受体和次级受体[3]。阻止多精入卵的透明带变化可能包括透明带上精子受体的灭活或水解，改变其识别精子的正常功能，游离的精子不能再与透明带结合，已与透明带结合或部分插入透明带的精子不能再穿过透明带。在小鼠上的研究发现，受精后初级和次级精子受体 ZP3 和 ZP2 都发生了修饰，ZP2 发生了一定程度的水解，ZP3 失去了精子受体的功能。早期研究发现，皮质颗粒内容物中含有类胰蛋白酶，可以引起透明带生化改变，但后来没有人对卵子中类胰蛋白酶进行持续研究。海胆卵母细胞受精后，皮质颗粒胞吐物卵过氧化物酶造成的受精膜硬化，参与多精受精的慢速阻止；卵过氧化物酶也存在于小鼠卵母细胞的皮质颗粒中，并能引起透明带硬化，但相关机制不清楚。爪蟾卵子皮质颗粒中含有的糖苷酶可以引起透明带糖蛋白的构象变化，使透明带变硬，并使精子的受体发生修饰。小鼠卵母细胞的皮质颗粒中含 *N*-乙酰氨基葡萄糖苷酶，能破坏透明带上与精子质膜β-半乳糖苷转移酶的结合位点[4]。目前还不清楚其他哺乳动物卵母细胞的皮质颗粒是否也含有这些酶。

兔卵的多精受精阻止主要发生在卵质膜水平上，猪卵质膜反应在阻止多精受精中也发挥重要作用，但透明带硬化也参与阻止多精入卵[5]。卵质膜反应阻止多精受精只是一种现象描述，对其机理了解得不多[6]。精子与卵子质膜的相互作用经历两个步骤，首先精子与卵子表面结合，然后精卵质膜融合。目前还不清楚卵质膜阻止多精受精是通过阻止精子结合还是融合而起作用的。卵子质膜上与精子相互结合和融合的分子是否在阻止多精受精中发挥重要作用也不清楚。卵子质膜中的整合素和精卵融合有关。有人提出这样一种假说，即精子与卵质膜上的整合素结合激活卵子，反馈抑制其他精子再与整合素结合，参与质膜阻止多精受精，也有人提出精子入卵后可能使卵质膜上的整合素灭活，但这些假说还缺乏实验依据支持[1]。跨膜蛋白 CD9 在不同动物卵子质膜上均有表达，$CD9^{-/-}$ 雌性小鼠发生严重的生育力下降，因为精子不能与 $CD9^{-/-}$ 卵子融合[7]。受精后，CD9 的降低可能与多精受精阻止有关[8]。有人推测，皮质颗粒胞吐时，皮质颗粒膜插入卵质膜，形成新的嵌合膜，改变了质膜原有的性质，使其不再接受精子，但这仍缺乏直接证据。关于皮质颗粒内容物是否参与质膜阻止多精受精，存在两种明显不同的观点。一种观点认为，皮质反应发生后，皮质颗粒的某些成分与卵质膜结合，可能在阻止多精受精中发挥作用。另一种观点认为，质膜阻止多精受精时，皮质颗粒内容物不起作用。

总之，哺乳动物精子入卵后，卵子发生皮质反应，主要以透明带反应和卵质膜

反应阻止多精入卵。但是，目前对卵子皮质反应发生的机理、透明带变化的生物化学及生物物理基础还了解得很少，尤其是卵质膜阻止多精受精只是一种现象描述，对其机理了解得不多。

参 考 文 献

［1］ 杨增明，孙青原，夏国良．生殖生物学．北京：科学出版社，2005

［2］ Sun QY. Cellular and molecular mechanisms leading to cortical reaction and polyspermy block in mammalian eggs. Microsc Res Tech. 2003，61（4）：342-348

［3］ Litscher ES，Williams Z，Wassarman PM. Zona pellucida glycoprotein ZP3 and fertilization in mammals. Mol Reprod Dev. 2009，76（10）：933-941

［4］ Hoodbhoy T，Talbot P. Mammalian cortical granules：contents，fate，and function. Mol Reprod Dev. 1994，39（4）：439-448

［5］ Coy P，Grullon L，Canovas S，et al. Hardening of the zona pellucida of unfertilized eggs can reduce polyspermic fertilization in the pig and cow. Reproduction. 2008，135（1）：19-27

［6］ Gardner AJ，Evans JP. Mammalian membrane block to polyspermy：new insights into how mammalian eggs prevent fertilisation by multiple sperm. Reprod Fertil Dev. 2006，18（1-2）：53-61

［7］ Naour FL，Rubinstein E，Jasmin C，et al. Severely Reduced Female Fertility in CD9-Deficient Mice. Science，2000，287：319-321

［8］ Zylkiewicz E，Nowakowska J，Maleszewski M. Decrease in CD9 content and reorganization of microvilli may contribute to the oolemma block to sperm penetration during fertilization of mouse oocyte. Zygote，2009，doi：10. 1017/S0967199409990189

撰稿人：孙青原

中国科学院动物研究所

审稿人：孟安明　周荣家

受精前有精子之间的竞争、精子选择和卵子对精子的吸引吗？

Is There Sperm Competition，Selection and Chemotaxis before Fertilization？

受精是精子与卵子结合形成受精卵的过程，是一个生命的起点。对于人类而言，男性每次射精释放出几千万到几亿精子，一般只有一个精子脱颖而出，在争夺生命的赛跑中战胜数以亿计的竞争对手，与卵子结合而延续自己的生命，而其他绝大多数精子在异性的体内悄然死去，被溶解吸收。对于多胎动物（如猪、鼠）而言，也只有少数几个精子完成受精。无疑，精子是人体内竞争最为壮烈的细胞，使卵子受精是其整个生命历程的终极目标。为什么雄性个体要产生如此众多的精子？母性体内存在精子选择机制而保证最好的精子受精吗？精子如何经过长途跋涉找到卵子？

有学说认为，雄性个体射出如此庞大数量的精子并不是为了手足相残，是希望采取“精”海战术，以量取胜，以便与其他雄性个体的精子竞争来传宗接代。最近研究发现，一种西欧木鼠的精子发生了独特的形态转化，它们会连接在一起，并且游动得比单个精子更快，这是哺乳类动物精子相互合作的首次发现[1]。射精后，单个的精子就动用起这一武器，抓住团队中的其他精子，形成一大串精子群。几百个到几千个精子集结成“一列火车”。精子“火车”的运动速度几乎比单个精子快将近 2 倍。受精前，精子“火车”解散，这可能是由于其中大部分精子提前发生了顶体反应，释放出的蛋白酶类，使它们之间的联系降解，这样的精子失去了受精能力，而顶体完整的精子到达卵子，保存了受精能力。最近的发现表明，多数鼠类动物的精子头部都有一个钩，其他鼠类的精子也具有这种相互合作的现象[2,3]。这些结果启示，人类的精子也可能会合作。当精子通过女性分泌的子宫颈黏液时，前面精子的行为与后面的不同。前导者可能是开拓者，他们抱有牺牲的决心，冲在阵地的前方，提早发生了顶体反应，使黏液发生一些适合精子通过的变化，好让后面的战友通过，而丧失了本身受精的机会。进化生物学家曾经说过：“一个雄性并不在意自己的哪一个精子最终使卵子受精，只要是自己的精子到达卵子，就比来自其他雄性的精子到达卵子要好”。但这还需要进一步的研究证实。

灵长类动物精子竞争在运动层面上发生，繁殖比较混杂的黑猩猩和猕猴精子的游动速度明显比人类和大猩猩的更快，力量也更大。人类和大猩猩在一个繁殖周期中，雌性个体一般只会与一个雄性交配，而黑猩猩和猕猴一般都要与群体中的多个

雄性交配。因此，后两者的雄性个体精子游动更快更猛，理论上与卵子成功结合的几率就越大。在一妻多夫制的交配模式中，快速游动的精子是受到进化青睐的。一般认为，在一妻多夫动物中，动物的精子的长度决定运动速度，精子长则运动快，获得受精的机会就多[4]。但是，最近有人提出，判断精子的受精机会，应该考虑精子尾部长与头部长的比例，而不应仅考虑精子的绝对长度[5]。

有人认为，雄性动物一次排除海量精子，是为了让精子互相竞争，最适于受精的精子与卵结合。数亿精子被射入雌性生殖道后，就开始了它们漫长艰难的相约之旅。它们必须游过阴道、子宫颈和子宫，通过输卵管，到达受精部位。它们还需冲过卵子周围的卵丘细胞和放射冠，再通过被称作透明带的结构才得以与卵子结合。只有数个精子可穿过放射冠，但通常只有一个精子能够穿过透明带进入卵内。精子运动途中绝大多数瘦弱病残的精子适应不了长途跋涉或雌性生殖道内的强酸环境而死亡，实现了优胜劣汰。但是有研究发现，精子中有的不良变异也可能在自然选择中获胜。导致塔头并指征的突变（称作 C755G）（与骨生长有关的一个基因的 DNA 序列发生了微小变化），在精子中出现的次数比预想的要高出 100～1000 倍[6]。具有正常运动能力、遗传物质存在缺陷的精子是否倾向于被自然淘汰还需要研究证实。

目前男性不育的比例持续增加，男性的精子数量从 20 世纪 50 年代的 6000 万个/mL 下降到目前约 2000 万个/mL。随着科学技术的发展，目前少精症、弱精症和无精症的病人可以通过单精子注射获得后代。这种助孕技术的施行给不育人群带来了福音；但是，另一方面它存在很多不为人知的潜在风险。人为地助孕使精子失去了“适者生存”的竞争机会，可能将带有缺陷的染色体遗传给后代。有的医学专家担心，现代医疗用非自然方法解决了部分不育症患者的生育问题，也使本应将被自然淘汰的变异基因仍继续遗传下去。这是否在一定程度上会威胁到人类未来的生存呢?

在受精前，精液射到阴道或子宫中。要完成受精，精子要通过长距离的游动到达受精部位（输卵管上 1/3 处或壶腹部）（图 1）。那么，哺乳动物精子和卵子的相遇是偶然吗？在水生动物、两栖类和其他非哺乳动物中发现，卵子和/或其周围的细胞分泌的化学物质可以吸引精子定向运动，到达受精部位，称为化学趋化作用(chemotaxis)。在海洋无脊椎动物，这种作用具有明显的种属特异性，即一种海洋生物的化学趋化物质通常只能吸引同种动物的精子，而对其他种属的精子没有趋化作用。而在两栖类，有的精子趋化物质对精子的吸引没有种属特异性。精卵趋化作用具有重要的生理作用，它可使大量的精子到达受精部位，这对于体外受精的水生动物特别重要，因为没有这种化学趋化作用，很难想象排到水中的精子和卵子会有机会相遇和受精。卵子释放的使精子定向快速地向卵子运动的可溶性信号是一些肽类、小分子蛋白质和有机小分子化合物，如氨基酸、小分子脂类和硫酸类固醇等。

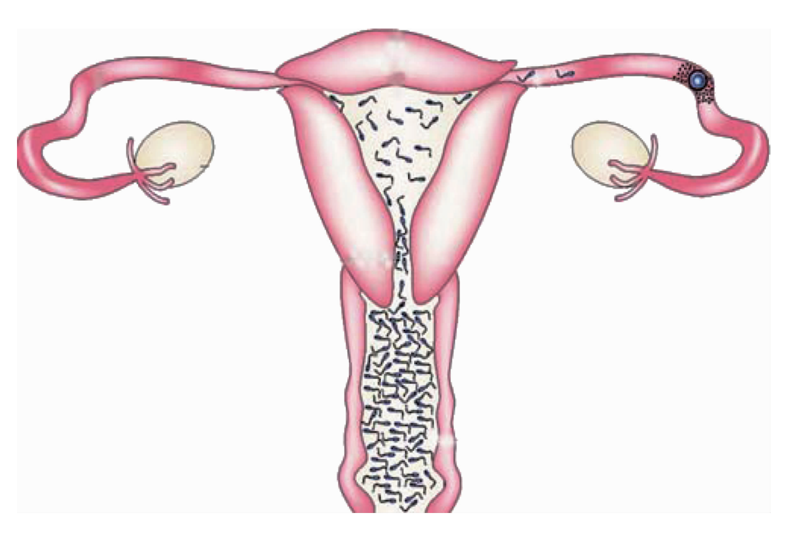


图1 排卵后，精子竞争性向卵子游动而完成受精的模式图（修改自［10］）

近年来的研究表明，哺乳动物精子在雌性生殖道运行时，也可能受到卵子或卵泡液中化学物质吸引而到达受精部位。人、小鼠和兔的卵泡液对精子运动都有趋化作用，但仅对获能精子有作用。哺乳动物的精卵化学趋化作用的生理功能可能与低等动物不同，它的主要作用可能是选择性地使获能精子募集到受精部位。哺乳动物的精卵趋化作用没有种属特异性。例如，兔和人的精子对人、兔和牛卵泡液的化学趋化物质的反应没有明显差别，这说明哺乳动物并不是通过种属特异性的化学趋化作用来防止异种受精。输卵管液、卵丘细胞分泌物、卵子分泌物等也对精子具有化学趋化作用[7]。哺乳动物的精子化学趋化物质还没有被分离出来，但有证据表明，卵泡液中对精子有吸引作用的成分可能是黄体酮，理由是卵泡液中含有黄体酮，卵子和其周围的卵丘细胞都可以产生黄体酮，重要的是黄体酮对多种动物包括人类精子在体外均有吸引作用，并且精子表面有黄体酮受体存在[8]。也有研究表明精子趋化物质可能属于对热稳定的肽类。最近发现，两栖类卵子胶膜所分泌的对精子有趋化作用的吸引素（allurin）也可以激发小鼠精子的化学趋化游动，从而提出了吸引素可能是哺乳动物精子化学趋化物质的观点。在精子趋化运动时，精子顺着趋化物质的浓度梯度向卵子运动。有趣的是，有些哺乳动物嗅觉受体（olfactory receptor）基因仅在或主要在精子中表达。在人精子中有独特的嗅觉受体。免疫细胞化学研究显示，嗅觉受体蛋白定位于精子尾部中段。据推测，嗅觉受体的作用是通过化学嗅觉信号通路使精子定向运动[9]。有人从分子、细胞和生理水平上对新发现的嗅觉受体 hOR17-4 在受精过程中可能发挥的作用进行了探讨，发现嗅觉受体 hOR17-4 像在嗅觉感应神经元中的作用一样，可以控制精子和卵子之间的通迅作用，在人精子趋化运动中具有重要功能。有证据表明，精子在卵子、卵周细胞释放

的化学物质作用下定向地快速向其运动，可能是由精子细胞内 Ca^{2+} 浓度升高引起的。化学趋化物质引起 Ca^{2+} 浓度升高需要外源 Ca^{2+} 及 Ca^{2+} 通道的作用，三磷酸肌醇（IP3）可以介导 Ca^{2+} 释放。精子中 Ca^{2+} 升高导致其非对称性鞭毛运动，从而产生化学趋化反应，这个过程也需要活性氧的产生。受精后或人工激活卵子以后，卵子对精子的化学趋化作用消失，有关这方面的机理还不清楚。除了化学趋化作用以外，有人又提出了精子的热趋化运动的概念，指出哺乳动物的精子可以像细菌运动一样，在排卵后从温度相对较低的精子储存部位向温度相对较高的受精部位运动。并且提出，热趋化是精子运动的长距离趋化机制，而化学趋化是精子运动短距离的趋化机制。精子的热趋化运动目前仍然是一个模糊的概念，具体的机制一无所知。

尽管已发现对哺乳动物精子有趋化作用的几种成分或因素，但卵子是否对精子有吸引（趋化）作用还是一个有争议的问题。对精子趋化作用的了解还是初步的，尤其是目前的相关的研究主要是在体外进行的，究竟体内哪一种分子或哪几种分子对精子趋化作用起关键作用，它（们）通过什么机制引起精子向卵子快速运动目前还没有答案。

总之，生物学家对是否存在精子竞争、母体对精子的选择以及卵子对精子的吸引等问题的兴趣由来已久，但所知甚少，有很多相关理论需要验证，这需要生物学家、物理学家和工程师的通力协作。

参 考 文 献

[1] Moore H，Dvoráková K，Jenkins N，et al. Exceptional sperm cooperation in the wood mouse. Nature，2002，418：174-177

[2] Immler S，Moore HD，Breed WG，et al. By hook or by crook? Morphometry，competition and cooperation in rodent sperm. PLoS ONE，2007，2：e170

[3] Pizzari T，Foster KR. Sperm sociality：cooperation，altruism，and spite. PLoS Biol，2008，6：e130

[4] Jaclyn M，Nascimento JM，Shi L，et al. The use of optical tweezers to study sperm competition and motility in primates. J Royal Soc Interface，2008，5：297-302

[5] Humphries S，Evans JP，Simmons LW. Sperm competition：linking form to function. BMC Evol Biol，2008，8：319

[6] Qin J，Calabrese P，Tiemann-Boege I，et al. The molecular anatomy of spontaneous germline mutations in human testes. PLoS Biol，2007，5：e224

[7] Kirkman-Brown JC，Sutton KA，Florman HM. How to attract a sperm. Nat Cell Biol，2003，5：93-96

[8] Guidobaldi HA，Teves ME，Uñates DR，et al. Progesterone from the cumulus cells is the sperm chemoattractant secreted by the rabbit oocyte cumulus complex. PLoS ONE，2008，

3：e3040
[9] Spehr M，Schwane K，Heilmann S，et al. Dual capacity of a human olfactory receptor. Curr Biol，2004，14：R918-920
[10] Kaupp UB，Kashikar ND，Weyand I. Mechanisms of sperm chemotaxis. Annu Rev Physiol，2008，70：93-117

撰稿人： 孙青原
中国科学院动物研究所
审稿人： 孟安明　周荣家

人造生殖细胞可能吗？

Is It Possible to Create Artificial Germ Cells?

生殖细胞在体内是怎样形成的？能否在体外获得功能性的生殖细胞或人造生殖细胞？科学家们正在经过不懈的努力去揭开其中的奥秘。

生殖细胞（germ cell）是在生物进化过程中形成的特化细胞，是多细胞生物体内能繁衍后代的细胞的总称，包括从原始生殖细胞直到最终已分化的生殖细胞。即在有性生殖生物体中是指从原始生殖细胞到配子等各个时期细胞。如今，无论是雄性还是雌性生殖细胞在体内或体外的分化、发育以及成熟等机理的研究，都是科学界的一大探索热点。

原始生殖细胞（primordial germ cell，PGC）起源于胚胎期卵黄囊内胚层细胞，位于卵黄囊的前尾区，在不断分裂增殖的过程中迁徙至生殖嵴，是胚胎发育过程中最早出现的生殖细胞。精原细胞（spermatogonia，或精原干细胞 spermatogonial stem cell）和卵原细胞（oogonia，或雌性生殖干细胞 female germ line stem cell）是由原始生殖细胞分化而来。它们除具有自我更新的功能外，还具有分化至相应配子的功能。即精原细胞在睾丸中发育，经初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞等阶段，最后发育为精子。精子是已经发育成熟的、真正具有“传宗接代”能力的雄性生殖细胞，也叫雄性配子。卵原细胞则在卵巢内分化至卵母细胞，经过生长发育和减数分裂，最后发育至成熟卵细胞，后者又称雌性配子。它具有受精能力，受精后能将遗传物质传给下一代。雄性配子与雌性配子结合后形成合子，而合子是有性生殖生物个体发育的起点（图 1）。

胚胎干细胞（embryonic stem cell）以及成体干细胞（adult stem cell）在特定条件诱导下能向生殖细胞方向分化，在体外获得生殖细胞已有相关的报道。具有多潜能性的胚胎干细胞，已经成为科学家们广泛应用的实验材料。Hubner 等报道，小鼠胚胎干细胞经过体外培养，能够形成卵原细胞，并进入减数分裂而形成卵子，并最终发育成囊胚结构[1]。Geijsen 等利用小鼠胚胎干细胞在体外培养的方法，能自发形成雄性原始生殖干细胞，其产生的雄性配子，与卵子受精后，可产生类似囊胚结构[2]。Nayernia 等发现小鼠胚胎干细胞经过体外定向分化，产生雄性配子，并证明该配子能够生育后代[3]。不仅是小鼠的胚胎干细胞能向生殖细胞方向分化，在其他哺乳动物也能实现这一过程。Yamauchi 等利用食蟹猴（cynomolgus monkey）的胚胎干细胞经过定向诱导分化，同样获得了生殖细胞[4]。Clark 等发现人的胚胎干细胞在体外能够自发分化形成生殖细胞[5]（图 1）。

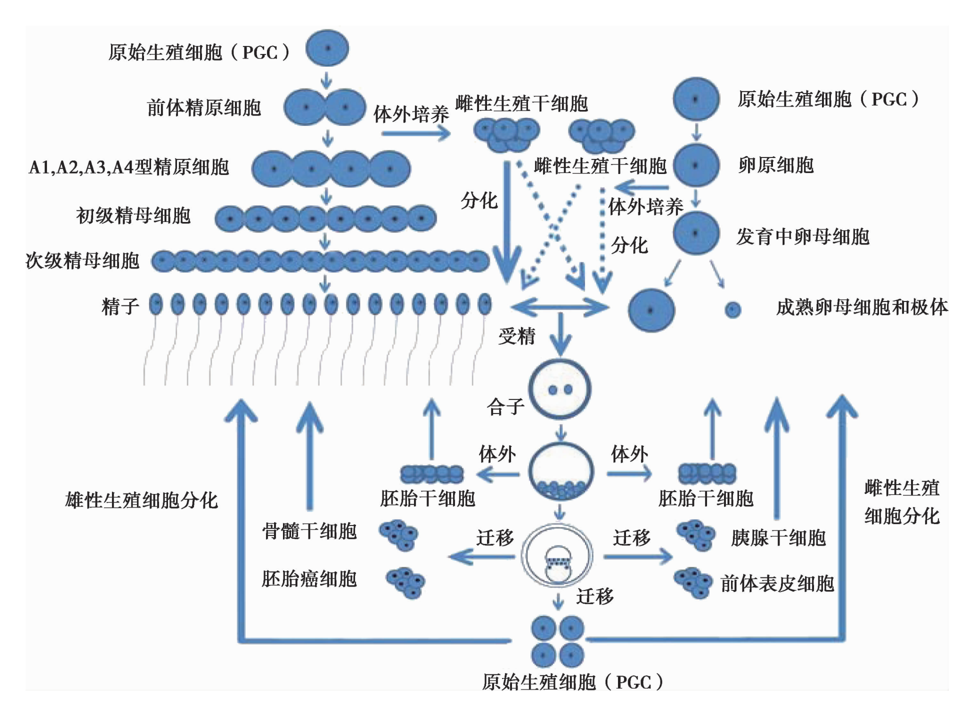


图 1　生殖细胞的生命周期

另外，科学家们利用成体干细胞，如骨髓干细胞（MSC）、胰腺干细胞（PSC）等，经过体外培养也能分化为生殖细胞。2004 年 Nayernia 等利用小鼠的胚胎癌细胞（ECC）分化，获得了雄性生殖细胞[6]。两年后 Nayernia 等利用小鼠的骨髓干细胞（MSC）在体外诱导分化，同样可以衍生出雄性生殖细胞[7]。Dyce 等报道，从猪胎儿皮肤中分离出的干细胞也具有内在激发能力，能分化成卵母细胞样细胞[8]。Danner 等指出小鼠的胰腺干细胞同样具有多向分化潜能，在体外能衍生出类卵母细胞结构[9]（图 1）。

目前科学家已经鉴定出生后哺乳动物性腺中雌、雄性生殖干细胞的存在，并成功实现了对其体外培养[10,11]。这为雌、雄生殖细胞在体外的获得，以及进行雌、雄生殖细胞在体外的分化和增殖机理的研究都具有重要的指导作用（图 1）。

iPS（induced pluripotent stem cell）细胞即诱导多能干细胞，具有类似胚胎干细胞的特性，它的问世解决了胚胎干细胞研究的伦理和免疫排斥等问题，因而已经成为生物领域的重大研究热点，它的成功报道，对人造生殖细胞的实现，提供了一条新的研究途径。Yamanaka 等首次提出了 iPS 细胞的概念，并且利用病毒载体将 4 个多能性基因 *oct 4* 、*sox 2* 、*klf 4* 和 *c-myc* 同时转入到皮肤成纤维细胞中，诱导出具有胚胎干细胞特性相似的诱导多能干细胞[12]。另外，科学家们经过不断地探索，通过重编程人、大鼠、猪以及猴等动物的表皮成纤维细胞，获得了各种 iPS 细

胞，并证实了 iPS 细胞的全能性。

人造细胞（artificial cell）同样具有生物体活细胞的特性，它的成功问世，为人造生殖细胞提供了重要的技术支持。麦基尔大学的 Chang 等首次提出了人造细胞的概念，并获得了人造细胞。宾夕法尼亚大学的 Dan Hammer 和 Dennis Dische 教授以及明尼苏达大学的 Frank Bates 教授等人成功研制了类血红细胞（red blood cell），这是人造细胞的又一大创举。耶鲁大学的 Tarek Fahmy 及 Steenblock 利用生物降解缝合材料来构建“人造细胞”，这是世界上第一个能够针对特定疾病或感染的人造抗原呈递（antigen-presenting）类细胞颗粒，可以迅速应用于临床治疗。“人造细胞”的诞生为“人造生命”的问世奠定了基础，“人造生命”是利用核苷等组成脱氧核糖核酸的基本要素创造新生命，美国马里兰州的生物学家 Craig Venter 成功地制造出了人造染色体，通过将人造基因嵌入已经被剔除了基因的其他细胞之中，最终由这些人造染色体控制这个细胞，发育成新的生命体，这意味着人类历史上的首个人造生命形态即将正式诞生。

因此，胚胎干细胞、成体干细胞、iPS 细胞、“人造细胞”以及“人造生命”的实现，都为人造生殖细胞的诞生提供了理论基础。

参 考 文 献

[1] Hubner K，Fuhrmann G，Christenson LK，et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science，2003，300：1251-1256

[2] Geijsen N，Horoschak M，Kim K，et al. Derivation of embryonic germ cells and male gametes from embryonic stem cells. Nature，2004，427：148-154

[3] Nayernia K，Nolte J，Michelmann HW，et al. *In vitro*-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring Mice. Dev Cell，2006，11：125-132

[4] Yamauchi K，Hasegawa K，Chuma S，et al. Germ cell differentiation from cynomolgus monkey embryonic stem cells. PLoS ONE，2009，4：e5338

[5] Clark AT，Bodnar MS，Fox M，et al. Spontaneous differentiation of germ cells from human embryonic stem cells in vitro. Hum Mol Genet，2004，13：727-739

[6] Nayernia K，Li M，Jaroszynski L，et al. Stem cell based therapeutical approach of male infertility by teratocarcinoma derived germ cells. Hum Mol Genet，2004，13：1451-1460

[7] Nayernia K，Lee JH，Drusenheimer N，et al. Derivation of male germ cells from bone marrow stem cells. Lab Invest，2006，86：654-663

[8] Dyce PW，Wen L，Li J. *In vitro* germline potential of stem cells derived from fetal porcine skin. Nat Cell Biol，2006，8：384-390

[9] Danner S，Kajahn J，Geismann C，et al. Derivation of oocyte-like cells from a clonal pancreatic stem cell line. Mol Hum Reprod，2006，13：11-20

[10] Kubota H，Avarbock MR，Brinster RL. Growth factor essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. PNAS，2004，101：16 489-16 494

［11］ Zou K，Yuan Z，Yang Z，et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. Nat Cell Biol，2009，11：631-636

［12］ Takahashi K，Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell，2006，126：663-676

撰稿人：吴 际 罗华程 周 励

上海交通大学

审稿人：孙青原 段恩奎

人类单性生殖有可能吗？

Is Parthenogenesis Possible in Human?

有性生殖（sexual reproduction）是大多数植物、动物包括人类长期进化过程中形成的生殖方式。通过有性生殖，来自父母双方的遗传物质发生重组。人类生殖需要父亲和母亲双方的遗传物质的结合，单性胚胎是不能发育成为后代的。然而，无性生殖（asexual reproduction）是许多低等动物正常繁殖现象。无性生殖是指亲体不通过性细胞（精子和卵子）的相互作用而产生后代的生殖方式，包括孤雌生殖和孤雄生殖。孤雌生殖又可分为两种类型，第一种是卵子经物理或化学的方法激活后，启动胚胎发育，由此发育而来的胚胎是一种纯孤雌胚。这种胚胎在整个发育过程没有任何雄性配子的参与。另一种是雌核发育（gynogenesis），精子正常地进入并激活了卵子，但精子的细胞核并没有参与胚胎的发育，来自精子的染色体很快消失，胚胎的发育仅在雌核的控制下进行。无性生殖过程中不发生来自父母双方遗传信息的重组，所以子代遗传物质基础和亲代完全相同。

自然条件下的无性生殖在低等的原生动物、无脊椎动物和低等脊椎动物中是十分常见的生理现象[1]。某些鱼类（如某些鲨鱼）和爬行类（如某些蜥蜴）正常情况下是通过孤雌生殖繁殖后代的。银鲫的成体都是雌性的，它们的卵子通过其他鱼的精子激活，而发生孤雌发育。大多数泥鳅都产生单倍体的卵子，受精后发育为后代，但有些雌性泥鳅产生双倍体卵子，精子可以进入卵子，但其遗传物质不参与发育，逐渐退化消失[2]。在人工辅助条件下，也可以诱导单性生殖。我国已故著名实验生物学家朱洗等在 20 世纪 60 年代，用针刺涂血的蟾蜍卵而获得一批孤雌生殖的小蟾蜍。经放射处理鱼类的卵子，使卵子遗传物质失活，受精后增加水压抑制卵子的第一次卵裂，恢复二倍性，孤雄生殖也能完成，胚胎可以发育为完全表现父本遗传性状的纯合个体。在脊椎动物，孤雄生殖也能被诱导发生。20 世纪六七十年代，我国生物学家童第周教授及其学生在鱼类的核移植研究上取得了举世瞩目的成就，他们成功地获得了发育正常的克隆鱼和异种克隆鱼[1]。

哺乳动物自发的无性生殖主要是指孤雌生殖。孤雌生殖在哺乳动物中有少数成功的报道，都没有被重复出来。所以，一般认为，哺乳动物不能进行孤雌生殖。自发的孤雌胚在子宫内可以着床，而且至少也能发育到肢芽期，但最终发育失败。人工诱导的孤雌胚在母体的子宫内均可以着床，但只能发育到一定的阶段，而不能正常出生。例如，将孤雌激活的小鼠卵移入受体内，可以发育并着床，存活到第 11 天；兔的孤雌激活胚在体内也可发育 11 天；绵羊的孤雌激活胚在妊娠 21 天时，有

心脏跳动，但在25～26天死亡。猪的孤雌激活胚移植后，18％的胚胎可以发育到第29天，超越心跳期，至少发育到肢芽期[1-3]。应用显微操作方法直接将小鼠受精卵中的雄原核去除，然后抑制受精卵的第一次卵裂，这样就可以得到二倍体的雌核发育胚胎，经体外培养它们可以发育到囊胚期，也可以在子宫内着床，但不能发育到出生。哺乳动物孤雌发育胚在早期致死的原因可能是多方面的，其致死的真正原因目前尚不清楚，但可能与基因印迹有关。利用自发的孤雌发育胚与正常受精的胚胎进行嵌合，胚胎移植后可以获得成活的嵌合体小鼠，说明孤雌发育胚来源的细胞可以嵌合到包括生殖细胞系在内的所有组织中。

那么人类未来是否可以在没有异性参与的情况下获得后代呢？正常生理条件下，人类生殖需要父母双亲生殖细胞的有性结合，因为雌性和雄性生殖细胞都建立了自己的特异性表观遗传修饰，使父母双方的等位印迹基因不对称表达，父本印迹阻止孤雌发育。但是最近的技术突破使单性生殖有了可能性。1997年，Wilmut等获得体细胞克隆动物多莉羊。他们通过体细胞核移植的方法，把供体的细胞核移植到一个去核的未受精的卵细胞中，让这个重构卵在体外发育到一定阶段后，移植到代孕受体中，在没有雄性生殖细胞参与的情况下成功地获得后代[4]。2004年，日本科学家河野（Kono）等报道了基因来自两位“母亲”，而没有“父亲”的小鼠的降生。在他们的实验中，经过遗传改造使一只母鼠的印迹基因的表达发生改变，用其早期卵子与一个来自未经改造母鼠的充分长大的卵子融合，实现卵子DNA的重组，继而以化学方式激活，结果成功培养出幼鼠并使其发育成具有生殖能力的成年鼠，实现了哺乳类的单性生殖，从而打破了哺乳类生殖必须依赖雌雄双方的遗传规律[5]。并且随着技术的改进，没有“父亲”的胚胎发育率与经体外受精获得的胚胎发育率没有差别[6]。

上述两项最新研究成果似乎预示着人类单性生殖可能实现，然而至少在目前阶段，人类的无性生殖是不可行的，主要原因有两个。①目前克隆技术在医学上存在不安全性，如上所述，这种不安全性源于表观遗传修饰的问题，而对人类生殖细胞的相关基因进行改造是不被允许的。②人类的无性生殖涉及重要的伦理道德问题。目前，有许多克隆人胚胎的报道，但都是在体外的培养，尚没有确凿的证据表明胚胎被移植到母体中发育。然而，我们无法判断未来人类的价值取向。随着研究的进一步深入，无性生殖技术在未来可能会变得更加有效。未来的关键是充分了解以下问题：已经分化的体细胞在卵子中如何被重新程序化？关键控制因子是什么？如何大幅提高孤雌生殖效率？如何对生殖细胞（而不是在个体水平）进行印迹基因的修饰？随着社会的发展和时间的推移，人类对无性生殖的态度可能也会有所变化。例如，假设生殖性克隆和自然生殖的成功率一样的话，目前有34％的美国人可以有条件地接受人类生殖性克隆[2]。但从进化角度讲，在持续环境变化和竞争的条件下，与有性生殖比较，无性生殖总体上处于劣势。

参 考 文 献

［1］ 陈大元．受精机理与生殖工程．北京：科学出版社，2002：252-264

［2］ Yanagimachi R. Germ cell research：a personal perspective. Biol Reprod，2009，80：204-218

［3］ Kure-bayashi S，Miyake M，Okada K，et al. Successful implantation of *in vitro*-matured，electro-activated oocytes in the pig. Theriogenology，2000，53：1105-1019

［4］ Wilmut I，Schnieke AE，McWhir J，et al. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature，1997，385：810-813

［5］ Kono T，Obata Y，Wu Q，et al. Birth of parthenogenetic mice that can develop to adulthood. Nature，2004，428：860-864

［6］ Kawahara M，Wu Q，Takahashi N，et al. High-frequency generation of viable mice from engineered bi-maternal embryos. Nat Biotechnol，2007，25：1045-1450

撰稿人：孙青原

中国科学院动物研究所

审稿人：孟安明　周荣家

生殖隔离的分子遗传机理是什么？

What Are Molecular Genetic Mechanisms of Reproductive Isolation

物种是具有一定形态特征和生理特征的生物类群，是生物分类的基本单元。物种形成（speciation）是新物种从旧物种中分化出来的过程。一般认为物种形成要经过三个环节：①种群产生遗传变异；②自然选择（也包括近代的人工驯化）等因素的作用使种群的遗传结构发生了适应性的改变；③不同种群由于地理隔离加深了种群遗传结构的差异和性状分歧，乃至出现生殖隔离（reproductive isolation），使不同的种群分化成不同的亚种或不同的种。现代生物学关于物种形成的研究对象大都是有性生殖的动植物，而物种形成的关键是种群间生殖隔离的产生，因而阐明生殖隔离的起源和分子遗传机理对了解物种形成和进化有重要意义。

生殖隔离是指使亲缘关系接近的种群之间在自然条件下不交配，或能交配但不能产生后代、或产生的后代不能存活或不育，使种群间的基因交流受阻的隔离机制。生殖隔离可分为受精前生殖隔离（premating reproductive isolation）或合子前生殖隔离（prezygotic reproductive isolation），包括生态隔离、形态隔离、行为隔离、和生理隔离等，和受精后生殖隔离（postmating reproductive isolation）或合子后生殖隔离（postzygotic reproductive isolation），包括杂种不活、杂种不育和杂种衰败等。生态隔离是由于生活习性的不同，使亲缘关系接近的种群之间交配不易成功的隔离机制。生物一般有一定的生育季节和时间，如动物的发情期、交配期；植物的开花期等，如果种群间的生育季节不同，就不能产生交配。如果种群间存在生理隔离，即使发生了交配，由于生理上的不协调而不能完成受精作用，如异种花粉落在柱头上通常不能形成花粉管，或形成花粉管也不能成功地通过花柱到达胚珠完成受精。杂种不活是指不同种生物受精后，虽能形成合子，但胚胎发育到一定阶段便死亡；或者胚胎能发育为幼体，但不能生活到性成熟，不能繁殖后代。例如，栽培稻和有些野生稻种杂交能够完成受精，但杂种的胚不能充分发育成可萌发的种子。杂种不育是杂交后能形成合子并发育成杂种个体，但杂种没有生育能力或生育力低下。例如，马和驴杂交所生的骡不能生育；栽培稻和有些野生稻种杂交能产生杂种个体，但育性很低。杂种衰败是指种间杂交虽能形成能育的杂种一代（F1），但在杂种二代（F2）中相当部分的个体不能存活。

生殖隔离的形成的内在原因是物种间遗传基础的变异，而由此产生的生殖隔离又阻碍物种间的基因交流，使种群间的遗传差异不断积累扩大。因此，种群间的遗传差异和生殖隔离的形成相互促进，当遗传差异和生殖隔离达到一定的程度，不同

的物种就产生了。而生殖隔离又使物种保持其遗传的特异性和稳定性。一些研究表明，基因突变、染色体变异和基因重组等都可能产生某种生殖隔离机制，但总的来说，人们对生殖隔离形成的分子机制知之甚少。物种间的生殖隔离往往是基于多种多样的生殖隔离机制的累积效应，而每种生殖隔离机制涉及不同的遗传原因，它们对物种间总的生殖隔离有不同的贡献度。一般认为，大部分物种间的合子前生殖隔离机制比合子后生殖隔离机制的贡献要大[1,2]。但有些分化程度较低的物种间的生殖隔离主要是合子后生殖隔离。例如，亚种栽培稻（*Oryza sativa*）和它的祖先种普通野生稻（*O. rufipogon*）可以通过自然杂交产生杂种（合子前生殖隔离程度低），但杂种的育性很低（合子后生殖隔离程度较高）。定量解析不同的生殖隔离机制和不同遗传因子对种群间生殖隔离的贡献度是一个难题。

杂种不育是比较受关注和研究得比较多的生殖隔离机制。已有的研究表明，在亚洲栽培稻的籼亚种（*indica*）和粳亚种（*japonica*）的杂种和亚洲栽培稻与非洲栽培稻（*O. glaberrima*）的杂种存在多个杂种不育座位，它们控制着杂种的花粉或小穗（雌配子）的育性。植物杂种不育的一个普遍现象是：在某个杂合的不育座位的作用（或两个座位的相互作用）下，杂种的雄配子或雌配子中携带某亲本等位基因的配子被选择性杀死，而携带另一亲本等位基因的配子能够存活并优先遗传到后代，因此在杂种后代产生等位基因的偏分离现象。但是，这些座位在纯合的状态下对育性没有影响。虽然单个杂种不育基因系统只能杀死部分配子，两个种（亚种）间存在的多个杂种不育基因系统的叠加作用可使杂种的育性降到非常低。Bateson-Dobzhansky-Muller（BDM）模型（图 1）能够广义地解释杂种不亲和（不育）基因如何从原始的基因中产生，但不能够具体解释杂种不亲和（不育）是如何发生的。最近，一个控制籼粳杂种雌性不育的基因 *S5* 和一个控制籼粳杂种花粉不育座位 *Sa* 的基因被克隆[3,4]。它们的籼粳等位基因的分化是由于碱基突变导致编码蛋白质的氨基酸变异。*Sa* 的研究结果以一个“双基因/三元件互作模型（two-gene/three-component interaction model）”说明了该座位控制籼粳杂种对携带粳型等位基因花粉的选择性致死的分子遗传机理（图 2）。*Sa* 是由 2 个相邻基因（*SaF* 和 *SaM*，分别编码 F-box 蛋白和小类泛素修饰因子 E3 连接酶）组成的复合座位。籼型等位基因编码的 SaF-i 蛋白和粳型等位基因编码的 SaM-j 蛋白在携带粳型等位基因的小孢子内通过直接的互作以及和籼型等位基因编码的 SaM-i 的间接互作，控制了所在的粳型等位基因花粉的不育。由于小孢子（花粉）是单倍体，一个小孢子只携带其中一个等位基因，因此籼型等位基因编码的 SaF-i 和 SaM-i 蛋白必须通过细胞间通道转移到粳型的小孢子才能和 SaM-j 进行直接和间接的相互作用，而 SaM-j 不能转移到携带 *SaF-i*/*SaM-i* 的小孢子产生互作。该模型较好地解析了等位基因特异的选择性杀配子是如何发生的。

尽管 *Sa* 座位的研究结果为植物杂种不育的分子机理解析打开了缺口，但蛋白质互作启动了下游的什么分子信号途径仍不清楚。另外，其他的杂种不育基因是如

何控制其等位基因特异的选择性杀配子的？通过某等位基因产物的细胞间转移和蛋白质间的互作控制等位基因特异性不育的模式是否适合于其他的杂种不育系统？要阐明这些问题，需要克隆更多的相关基因，用现代分子生物学方法解析其作用机理。

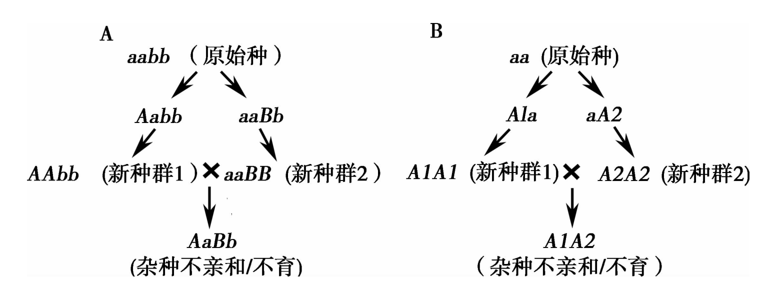


图 1 Bateson-Dobzhansky-Muller 杂种不亲和（不育）模型

A. 双座位互作模型；B. 单座位互作模型

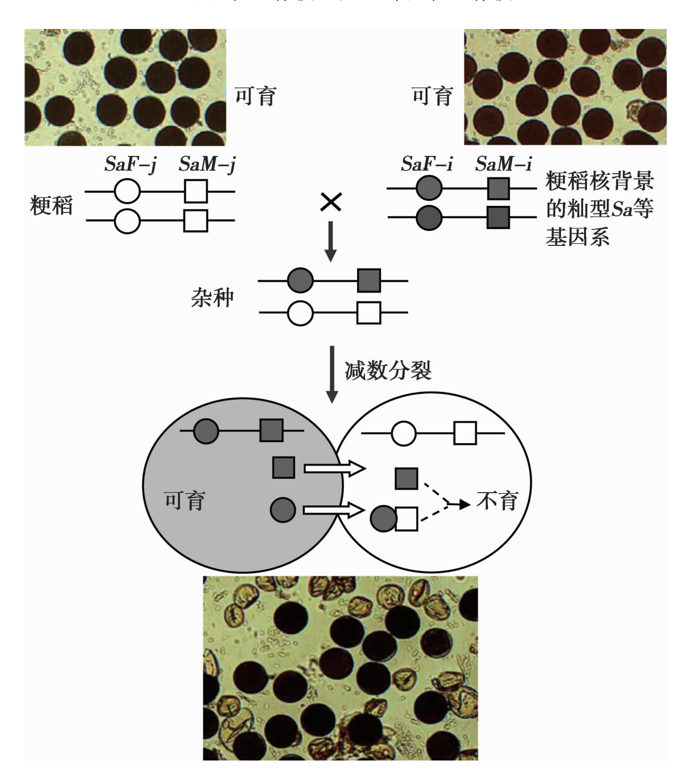


图 2 *Sa* 复合座位控制的籼粳杂种花粉不育的双基因/三元件互作模型

有横线串联的小圆圈和小方格表示相邻存在（8kb 范围）的基因；小孢子（显示四分体中的 2 个）内的没有横线串联的小圆圈和小方格表示其蛋白质；小孢子间的箭头表示蛋白质的胞间转移。SaF-i 只和 SaM-j 直接互作但不能与 SaM-i 直接互作。*SaF-j* 是没有杂种不育功能的突变基因

参 考 文 献

[1] Rieseberg LH，Willis，JH. Plant speciation. Science，2007，317：910-914

[2] Lowry DB，Modliszewski JL，Wright KM，et al. The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. Phil Trans R Soc B，2008，363：3009-3021

[3] Chen J，Ding J，Ouyang Y，et. al. A triallelic system of S5 is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of indica-japonica hybrids in rice. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：11 436-11 441

[4] Long Y，Zhao L，Niu B，et. al. Hybrid male sterility in rice controlled by interaction between divergent alleles of two adjacent genes. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：18 871-18 876

撰稿人： 刘耀光

华南农业大学

审稿人： 杨维才

植物有性生殖与无性生殖是如何起源和进化的？

How Are Sexual Reproduction and Asexual Reproduction in Plants Originated and Evolved?

对于地球上形形色色的生物而言，无论是低等的还是高等的、简单的还是复杂的，都要经历一个从生到死的过程。然而，生命并不会因为生物个体的死亡而消失，正是各种各样的生殖方式确保了生命的绵延不息、丰富多彩。所谓生殖，是由亲代产生子代的现象，是生物的基本特征之一。总的来说，生物的生殖方式可以分为两大类：即无性生殖（asexual reproduction）和有性生殖（sexual reproduction）。无性生殖是指不经过生殖细胞的结合，由母体直接产生出新个体的生殖方式。无性生殖有四种类型：分裂生殖（如细菌等单细胞生物）、出芽生殖（如酵母、水螅等）、孢子生殖（如衣藻和小球藻等原生藻类、真菌等）和营养生殖（例如马铃薯通过块茎、蓟通过根、草莓通过匍匐枝、秋海棠通过叶在自然环境下产生新个体的生殖方式；或者人工扦插、嫁接、组织培养等）。而有性生殖是指生物产生两种不同性别的生殖细胞（雄配子和雌配子），然后由雄配子和雌配子相结合产生新个体的生殖方式。有性生殖有三种类型：同配生殖、异配生殖和卵式生殖。对于植物而言，从低等的藻类、苔藓植物、蕨类植物到种子植物都有卵式生殖，而同配生殖、异配生殖只见于藻类。

既然生殖现象对于自然界生命的延续如此重要，那么生殖现象以及性是如何起源和进化的？早在100多年前，达尔文就对此问题产生了好奇。然而，对他而言，“整个问题仍然隐藏在黑暗之中”。随着生物学研究手段的不断丰富，生物基因组资料的日益增加，以及复杂的数学模型的引入，科学家们对于性的起源和进化问题已经有了比较深入的认识。例如，科学家们在对无性生殖的原生生物——利什曼原虫（*Leishmania*）进行研究时发现了性重组的迹象[1]；另有研究表明，一种导致阴道感染的原生动物阴道毛滴虫（*Trichomonas vaginalis*）的基因组中含有减数分裂必需的几乎所有基因[2]。以上发现都说明这些看上去只进行无性生殖的原生生物很可能曾经是“有性”的生物；而且，有性生殖可能在大约20亿年前所有真核生物（包括动物、植物、真菌和原生生物）的共同祖先中就已经存在了。

众所周知，大多数植物具有位置固定和不能迁移的生活习性。那么对于植物而言，究竟是有性生殖好，还是无性生殖好呢？两种生殖方式在进化上有什么规律呢？近年来，许多生物学家都在致力于这方面的研究，并提出了各种各样的假说。例如比较有代表性的“双面下注（bet-hedging或tangled bank）”假说和“红皇后

（red queen）”假说。前一种假说认为生殖方式就和参加抽奖一样，无性生殖只是买了许多同样号码的彩票，即使买得再多也不可能增加中奖概率；而有性生殖却是买了许多不同号码的彩票，显然最有可能中奖。根据该假说，我们不难理解，虽然有性生殖产生子代的数目相比于无性生殖要低得多，但是有性生殖带来了基因重组，基因重组带来了丰富的变异，而这些变异更有能力接受生存的挑战。特别是有性生殖还能够促进有利突变在种群中的传播，从而提高种群的适合度。如果一个进行无性生殖的植物种群发生了有害的突变，随着时间的推移，这种突变势必会影响该种群的扩张，并影响种群适应环境及生存的能力。而在有性生殖的植物种群内，通过重组可以把有害的基因“清除”掉，从而使种群的扩张不受影响。因此，当环境（包括温度、水分、光照、无机营养以及生物因素等）适宜时，大多数植物类群倾向于采取无性生殖的方式来迅速扩大种群的规模，以充分利用丰富的资源；当环境条件变得恶劣时，它们则会优先选择有性生殖的方式进行生殖。

“红皇后”假说主要是用于解释宿主与寄生生物或者捕食者之间的共同进化。该假说是根据刘易斯·卡尔罗的《爱丽丝镜中奇遇》中的故事由美国芝加哥大学进化生物学家范瓦伦（Van Valen）于1973年提出的。在故事中，红皇后带着爱丽丝一起跑，看上去永远没有离开原地。红皇后解释说：“你瞧，在我们这儿，你得拼命地跑，才能保持在原地”。其含义与成语“逆水行舟，不进则退”非常相似。一些科学家认为红皇后假说可能为有性生殖提供了一个进化的优势。无性生殖的品系可能永远无法超越有性生殖的品系，因为无论无性生殖的品系进化得多么成功，寄生生物或者捕食者都会积累并毁灭这个品系。而有性生殖的品系则可以通过基因重组来获得新的基因组合，从而使寄生生物或者捕食者更难以适应。例如在柳叶菜科中的259个物种中，受到专一性昆虫侵害的有性生殖的物种（占85%）比受到广食性昆虫侵害的同科无性生殖物种（占15%）能更好地抵御病虫害。该项研究证明植物有性生殖在抵御虫害方面比无性生殖存在明显的优势[3]。虽然红皇后效应可以让有性生殖的生物具有明显的优势，但是该假说本身并不能完全解释性的持久存在，因为红皇后效应并不能完全消除无性生殖。很有可能，红皇后效应可能通过与另一种因素共同作用从而更有效地促进有性生殖的进化[4]。

通常进行有性生殖的物种其生活周期中都有二倍体阶段（孢子体阶段）和单倍体阶段（配子体阶段），二者在植物的生活史中交替出现，这就是所谓的所谓世代交替（alteration of generations）[5]。蓝藻和某些单细胞真核藻类，它们没有有性生殖过程，因此不具有世代交替现象。在大多数进行有性生殖的真核藻类植物中，可以看到由配子体世代占优势向孢子体世代占优势的趋势发展。蕨类植物的孢子体比配子体要发达些，但是二者都能独立生活；苔藓植物则是配子体世代占绝对优势，孢子体不能独立生活；而高等植物（裸子植物和被子植物）通常是孢子体世代占绝对优势，配子体不能独立生活。从进化观点来看，二倍体较之单倍体更具优越性。

原因是经受精作用而产生的二倍体一方面，可以保留许多暂时不起作用但在单倍体中可能会丢失的基因，从而使基因组合的潜在变异能力得以提高，有利于通过遗传机制产生更具适应能力的新物种；另一方面，由于隐性基因表达的机会减少、传播缓慢，有缓解自然选择压力的作用，所以生物体就可以更好地适应突发的环境变化以及病原菌等生物因素的侵袭。

目前，对于植物有性生殖和无性生殖起源和进化的理解虽然已经取得了很大的进展，但是相比于动物而言，植物有着特殊的生活习性和更为复杂的生殖系统，现有的大多数研究结果还只是限于对一些现象的描述和揭示，以及对一些假说的证明，因此对植物有性生殖和无性生殖起源和进化的深层机制的研究将是今后的研究重点[7]。随着全球气候变暖日益加剧，已有研究表明表观遗传机制影响植物的生殖过程以及植物的进化，那么这种机制是如何起作用的？此外，植物与寄生生物或者捕食者之间是如何共进化的？与有性生殖相关的基因重组是如何影响性的进化的？这一系列的问题都需要进一步深入的研究和探索。相信随着进化生物学、分子发育生物学以及生物信息学研究的不断深入以及其他相关学科（如数学、化学等）的发展，我们将对它们有更多深入的理解和认识。

参 考 文 献

［1］ Miles MA，Yeo M，Mauricio IL. *Leishmania* exploit sex. Science，2009，324：187-189

［2］ Carlton JM，Hirt RP，Silva JC. Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*. Science，2009，315：207-212

［3］ Johnsona MTJ，Smith SD，Rausher MD. Plant sex and the evolution of plant defenses against herbivores. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106：18 079-18 084

［4］ Zimmer C. On the origin of sexual reproduction. Science，2009，324：1254-1256

［5］ Graham LK，Wilcox LW. The origin of alternaration of generations in land plants：a focus on matrotrophy and hexose transport. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci，2000，355：757-767

［6］ de Visser JA，Elena SF. The evolution of sex：empirical insights into the roles of epistasis and drift. Nat Rev Genet，2007，8：139-149

［7］ Hedhly A，Hormaza JI，Herrero M. Global warming and sexual plant reproduction. Trends Plant Sci，2008，14：30-36

撰稿人：山红艳 孔宏智

中国科学院植物研究所

审稿人：杨维才 薛红卫

干细胞是治疗多种疾病的新希望吗?

Is Stem Cells New Hope for Disease Treatment?

干细胞是在多细胞组织中发现的一种“原性”细胞，它们具有自我更新和分化成多种特定组织的能力。干细胞广泛存在于动、植物体内，相比动物干细胞，植物干细胞的全能性更强，比如顶端分生组织（apical meristem），它们可以分化成植物体的各个部分。动物干细胞研究工作的开展，起源于加拿大科学家 Ernest A. McCulloch 和 James E. Till 的实验，他们在对小鼠进行骨髓移植时发现一些脾脏细胞实际上来源于骨髓移植细胞[1]。

动物干细胞按照不同的标准，可以划分为多种不同的种类。从囊胚内细胞团分离而来的干细胞称为胚胎干细胞，而从孤雌胚胎中分离得到的干细胞，被称为孤雌胚胎干细胞。相应地，从不同成体组织中分离而来的干细胞则称为成体干细胞。1981 年，Martin Evans，Matthew Kaufman 和 Gail R. Martin 第一次成功地分离出小鼠的胚胎干细胞。1998 年 James Thomson 又首先成功分离出人类的胚胎干细胞。胚胎干细胞的成功分离及体外培养方法的不断成熟，为其临床应用提供了先决条件。我们所说的成体干细胞又可分为造血干细胞，乳腺干细胞、间充质干细胞、内皮干细胞、神经干细胞以及睾丸干细胞等多种不同的种类。而这些细胞并不只具有单一的分化能力，如造血干细胞甚至可以分化成神经细胞，但与胚胎干细胞相比，其多能性明显降低。

那么，干细胞到底有哪些神奇之处，让全世界的科学家和大众都对它如此着迷？最重要的原因在于，干细胞具有两个普通细胞所不具有的“看家本领”。这两个本领，一个是干细胞自我更新的能力，另一个，则是干细胞强大的分化能力——多能性或全能性。在众多种类的动物干细胞中，分化能力最强的是胚胎干细胞，它具有分化成为个体身上所有 200 多种细胞的能力。而干细胞的自我更新能力，理论上能够使人们得到无限多的干细胞。干细胞的这两种本领被揭示之后，人们心中就燃起了一个愿望：也许能够通过干细胞的分化，来获得不同的体细胞，进一步作为细胞移植和细胞治疗的材料。干细胞，这么一个小小的生命单元，成为了治疗人类疾病的新希望。

想要让希望变成现实，使干细胞移植成为治疗多种疾病的首选方法，科学家们需要战胜很多困难。首先要解决的问题，是如何获得大量的干细胞。2006 年，日本科学家通过特定因子（Oct4、Sox2、c-MYC 和 Klf4）的诱导，成功地在体外将小鼠胎儿成纤维细胞转变为诱导多能干细胞（induced pluripotent stem cell,

iPS)[2]。这一发现立刻在胚胎干细胞研究领域引起了巨大轰动，并极大地推动了这一领域的相关研究。时至今日，科学家们已成功获得了小鼠及人类的 iPS 细胞；与此同时，iPS 也已经被证明是一种具有“真正的全能性”的细胞。iPS 的出现有效地解决了干细胞的来源问题，避免了之前利用胚胎干细胞所引起的诸多伦理道德问题，为干细胞在人类临床治疗中的应用开辟了新的天地。但是，制备 iPS 细胞需要人为地导入基因并使其表达，会带来和转基因一样的生物安全问题。如何通过非基因导入途径高效地制备 iPS，是未来干细胞研究的一个重要课题。

通过干细胞移植治疗疾病面临的另一个问题是，什么样的细胞才是适合进行移植的？是将干细胞分化成体细胞之后，再移植到病人体内，还是直接用干细胞移植？由于胚胎干细胞分化能力太强，如果直接移植到动物体内，可能会在原位产生一个“肿瘤”；而且由于胚胎干细胞是来自于早期的胚胎，因而在研究与应用中就不可避免的会面对诸多伦理道德方面的争议。成体干细胞增殖能力不强，也不容易在宿主体内存活，所以目前一般是考虑用成体干细胞进行移植治疗。目前在临床上使用的最多的干细胞，主要有骨髓间充质干细胞和造血干细胞。这两类细胞中，前者来源广泛、免疫耐受性较好，且具有一定的分化潜能[3]；后者在治疗自身免疫性疾病等方面具有优势。尽管如此，目前的干细胞治疗都只能缓解病情，而不能根治疾病。

干细胞临床应用有异体移植和自体移植两种。异体移植的干细胞主要应用于自身免疫疾病的治疗，为了消除患者的免疫系统对自身组织的排斥，需要用捐献者的干细胞来对患者的免疫系统进行“再造”，而异体干细胞移植在治疗损伤性疾病时，则通常无法避免免疫排斥这一重大困难。自体移植则是取出患者自身的骨髓干细胞，体外培养后移植回病人体内[4,5]。这种方法避免了免疫排斥的问题，多用于白血病、淋巴瘤和多种实体瘤的治疗。然而，无论是自体移植还是异体移植，都有自己的缺陷。异体移植会导致免疫排斥，而自体移植可以治疗的疾病范围过于狭窄。利用 iPS 技术可以解决这两个问题：患者自己的体细胞诱导成的 iPS 细胞，不会引发自身的免疫排斥，而 iPS 细胞和胚胎干细胞相近的增殖和分化能力，则可能在不久的将来应用到更广泛的领域中。

从理论上讲，干细胞具有分化为各种细胞的潜能。利用移植的干细胞治疗疾病时，一般是希望让干细胞分化为某一种或某几种类型的细胞。但是，控制干细胞向某一种细胞类型分化，涉及内在和微环境因素的复杂调控。阐明相关的调控机制，对于干细胞的有效、适当的应用具有非常重要的意义。

由于干细胞的相关机制的研究尚未到达足够的深度，现在想要广泛的应用于临床还为时过早，就算是小范围应用，也必须在严格的监管下进行，才能维护科学的严谨性，保护患者的权益[6]。另一方面，对干细胞和相关领域的研究正在如火如荼地进行。相信在不久的将来，当人们对干细胞及其分化、更新和移植的机制有了深

刻的了解之后，这颗医学新星将会成长为一颗真正的“医学明星”，在治疗多种疾病上发挥重要作用。随着干细胞技术的研究与应用的不断地深化和发展，干细胞将为人类展现出一幅神奇、奥妙的图景，并造福于人类。

参 考 文 献

［1］ Becker AJ，McCulloch EA，Till JE. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. Nature，1963，197：452-454

［2］ Takahashi K，Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell，2006，126：663-676

［3］ 徐隋意，李光来. 人骨髓间充质干细胞向神经元样细胞诱导分化. 中国组织工程研究与临床康复，2009，13：5385-5388

［4］ 朱应合，韩金铃，刘彦平，等. 自体骨髓干细胞经肝动脉移植治疗急性肝损伤的实验研究. 介入放射学杂志，2009，18：529-533

［5］ 党懿，齐晓勇，孟存良，等. 骨髓间充质干细胞体外诱导培养后的电生理特性. 中国组织工程研究与临床康复，2009，13：5261-5264

［6］ 李万刚. 干细胞治疗：需要监督的梦想. 科技新时代，2009，7：17-18

撰稿人： 周　琪

中国科学院动物研究所

审稿人： 朱作言　孟安明

一个细胞如何分裂出两个不同的后代细胞（不对称分裂）?

How Does Asymmetric Progenitor Cell Division Occur?

在我们通常的理解中，已习惯地把“细胞增殖”等同于细胞简单的自我复制。但如果设想一下，每一个多细胞生物体都起始于一个单个细胞，例如一个人，开始于一个受精卵细胞，而最终发育成包括200余种不同类型细胞的复杂人体，那么我们就可以毫不犹豫地说，细胞分裂并非只是简单地复制。必须有一些细胞，它们分裂所产生的子细胞是不同的。这种“不对称分裂”就是产生细胞多样性，进而实现组织器官结构与功能多样性过程中的关键性节点。这在逻辑上可以说是早就确定无疑，但细胞是如何做到这一点的呢?

一百多年前，研究者基于对海鞘和水蛭细胞谱系的分析，首次提出细胞不对称分裂假说，即在细胞分裂过程中细胞质的不对称分配会导致子细胞不同的命运[1]。然而，直到20世纪90年代，随着Numb蛋白在果蝇周围神经系统中被发现[2]，人们才开始揭开细胞不对称分裂分子机制的神秘面纱，而Numb蛋白也成为第一个被冠以“细胞命运决定子”的蛋白质。从那时起，更多研究者使用秀丽隐杆线虫受精卵、果蝇神经母细胞及周围神经系统、种系干细胞以及哺乳动物神经上皮细胞等不同的模式系统进行研究，取得了一系列有意义的成果。

目前，细胞不对称分裂是多细胞生物发育的基础已得到广泛认同。从发育生物学的角度，细胞不对称分裂的定义为：一个母细胞分裂产生两个具有不同发育潜能的子细胞。研究发现，细胞不对称分裂的产生会受到内源性因素和外源性因素的双重影响。对外源性因素来说，子细胞产生开始是相同的，但由于子细胞与周围细胞间的互相作用及所处微环境的影响而导致子细胞获得不同的发育命运；而对内源性因素来说，细胞命运决定子在有丝分裂期间被不均等地分配到两个子细胞，从而使子细胞走上不同的发育途径[3]。一般而言，细胞不对称分裂包括以下事件：①在待分裂细胞中建立一个极性轴；②细胞命运决定子沿极性轴作极性分布；③在极性轴两极之间形成细胞有丝分裂面；④不均等分布的“细胞命运决定子”和细胞间相互作用指导决定细胞的不同命运[4]。现在已经有一些实验证据让我们开始逼近可能的事实真相。例如，在对秀丽隐杆线虫突变体的筛选中鉴定出的细胞不对称分裂相关基因家族par（partioning defective），共有7个成员：*par-1*～*par-6*和*pkc-3*。除了Par-2蛋白之外所有的Par在进化中都是保守的。果蝇中枢神经系统成神经细胞在神经外胚层上皮中特化时建立极性，极性由与线虫Par-3同源的Bazooka（Baz）

蛋白、与线虫 Par-6 同源的果蝇 Par-6 蛋白和果蝇非典型性蛋白激酶 c（DaPKC）三种蛋白质确立。当成神经细胞与上皮层分离后，居于细胞顶部皮层的 Par-6/Baz/DaPKC 复合物与一个接头蛋白 Inscuteable 结合。Inscuteable 在此募集另一个接头蛋白 Pin 和异三聚体 G 蛋白 α 亚单位进入复合体（图 1）。研究表明，Par、Pin、Inscuteable、G 蛋白 α 亚单位和微管蛋白的多方参与使纺锤体沿着细胞极性轴定向并产生一定的移位，在细胞皮层和纺锤体的相互作用中，使纺锤体两极产生的拉力不等（图 2）。同时，果蝇中细胞命运决定子的不对称分配都受到 Par6/Baz/DaPKC 复合物的指导，例如聚集于底端的细胞命运决定子复合物 Mira/Pros/Brat 和 Pon/Numb，这两种复合物对神经节母细胞的增殖和分化起作用。细胞命运决定子通常是些转录调节因子或细胞信号转导途径中的重要成分，与此相一致，转录和翻译调节作为细胞命运调节的总机制正逐步得到认同。

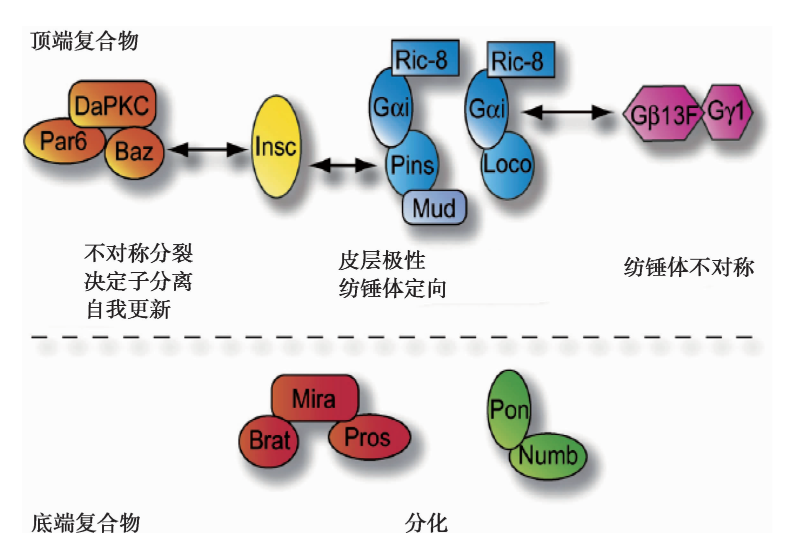


图 1　果蝇成神经细胞不对称分裂中涉及的顶端和底端复合物[1]

顶端复合物（Par-6/Baz/DaPKC）主要参与细胞极性的建立，并指导细胞命运决定子定位于成神经细胞底部皮层。Insc/Pins/$G_{\alpha i}$在纺锤体定向中起重要作用。聚集于底端的细胞命运决定子复合物包括 Mira/Pros/Brat 和 Pon/Numb，对神经节母细胞的增殖和分化起作用

已经取得的成果固然令人欣喜，但是更根本的问题，即“细胞命运决定子”的不对称分布，又是被谁“决定”和如何“决定”的呢？它们和细胞分裂面又是如何关联的呢？显然目前仍然尚未得到解决。

同时，在过去的研究中，大部分关于细胞不对称分裂机制的探索都是基于对无脊椎动物的研究。在脊椎动物中，虽然没有发现明确的遗传证据，但是，在细胞有丝分裂期不对称分配的多种蛋白质已经被鉴定出来，特别是与神经系统发育相关的蛋白质。值得指出的是，大部分 Pars、Pins、G 蛋白家族成员以及 Numb 在脊椎动

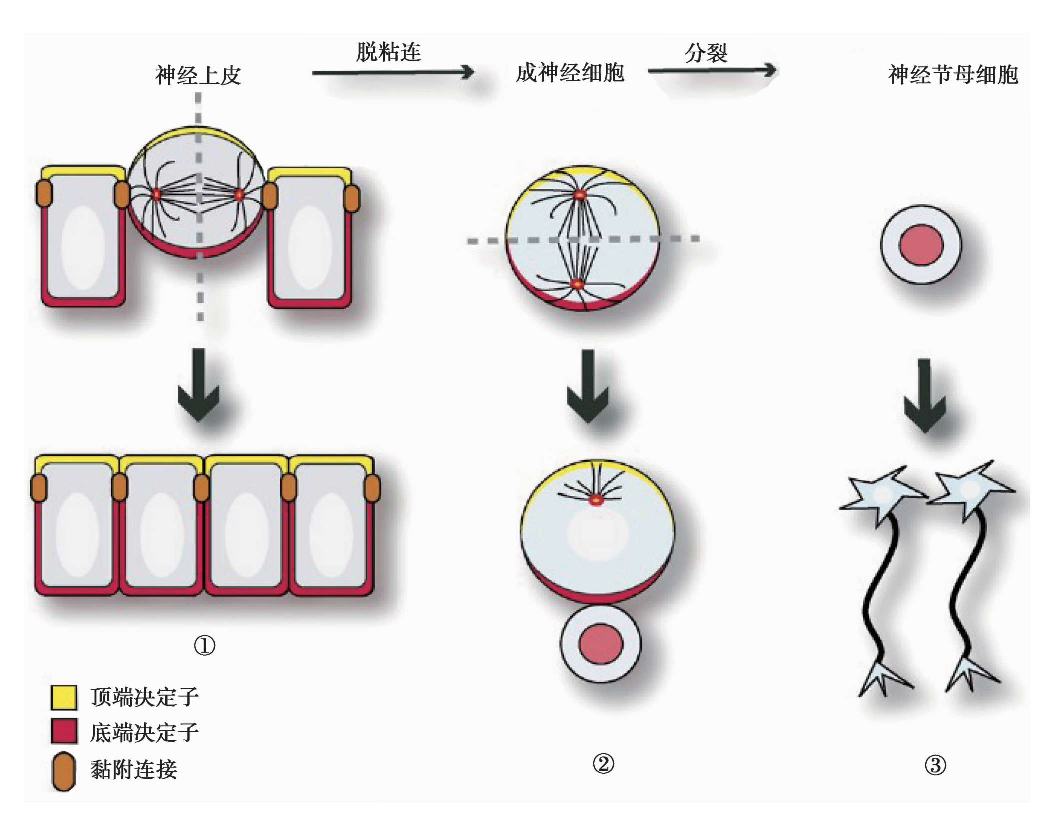


图 2　果蝇神经母细胞典型分裂模式图[2]

①果蝇成神经细胞源自胚胎神经外胚层中的神经上皮细胞。神经外胚层细胞在上皮组织内进行对称分裂产生相同的子代细胞。②成神经细胞将纺锤体轴旋转 90°，使其与划分顶端决定子复合物和底端决定子复合物的轴垂直，并且进行不对称分裂，每个成神经细胞分裂为一个成神经细胞和一个相对较小的神经节母细胞。③神经节母细胞进一步分裂成神经元

物中都是保守的。那么，脊椎动物的细胞不对称分裂过程也同样依赖于细胞命运决定子并经历与无脊椎动物相似的过程吗？已经鉴定得到的相关因子是否会在人类机体发育过程中起到同样重要的作用呢？确切的结论还有待进一步的研究。

以果蝇为模式生物的研究发现，许多不对称分裂相关蛋白质在细胞有丝分裂各个时期动态表达，其亚细胞定位也呈现一定的细胞周期依赖性。图 3 显示了果蝇脑成神经细胞中部分细胞命运决定子——底端蛋白质复合物成员 Miranda、顶端蛋白质复合物成员 Inscuteable 结合蛋白以及 PKCδ 的细胞周期依赖性定位。一些细胞周期调控因子，如 Cdc2/Cdk1 和 Aurora-A 激酶等，均参与调控细胞命运决定子的不对称分配。这在一定程度上说明，细胞周期调控与细胞不对称分裂具有相关性，并且可能存在交叉调控的关系[4]。目前已经发现的具有调控细胞不对称分裂功能的细胞周期调控因子数量有限，其发现过程也十分偶然，导致我们对于这两个系统关

系的认识零散而片面。两个系统究竟存在怎样一种相互作用方式？有多少调控因子参与其中？这种作用方式在多细胞生物体中是否普遍存在？要解释这些疑问还需要更深入的探索。

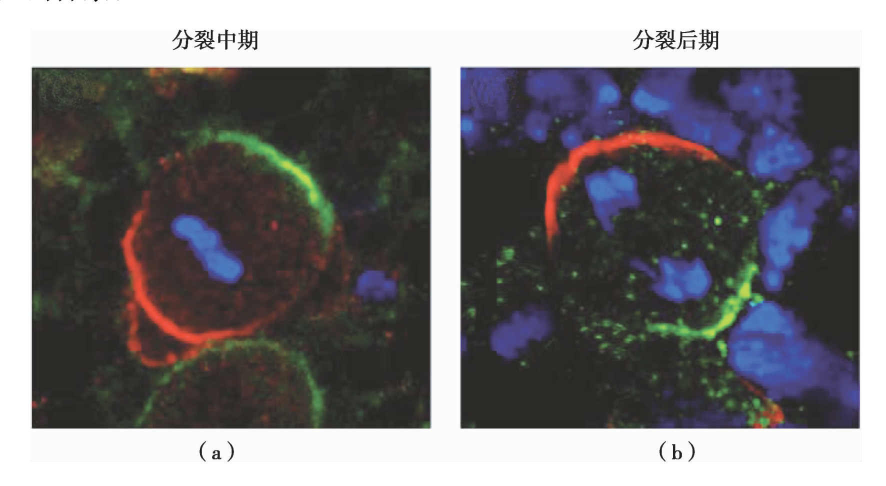


图 3　部分细胞命运决定子的细胞周期依赖性定位[4]
红色荧光显示果蝇脑成神经细胞不对称分裂中涉及的底端蛋白质复合物成员 Miranda，绿色荧光显示顶端蛋白质复合物中的部分成员，如 Inscuteable 的结合蛋白（a），以及 PKCδ（b）。抗磷酸化组蛋白 H3 抗体标记有丝分裂染色体（a，蓝色荧光），TO-PRO-3 显示 DNA（b，蓝色荧光）

长久以来，肿瘤就是人类挥之不去的梦魇。随着肿瘤干细胞假说的提出，从干细胞角度来理解癌症的发生受到广泛关注。干细胞不对称分裂现在已为人们所熟知和重视，肿瘤干细胞很可能也通过不对称分裂方式，即分裂后的细胞生成一个保持干细胞特征的子细胞和一个要走向分化的子细胞，直至形成包含所有不同比例的不同发育阶段的细胞混合群体，构成临床病理观察到的肿瘤复杂细胞群[5]。从这个角度来讲，细胞不对称分裂的研究能够为干细胞生物学及肿瘤生物学研究在理论和实践两方面都提供重要的依据。最近有研究显示，对果蝇细胞不对称分裂调节结构的破坏，会导致细胞增殖失控并形成恶性肿瘤[6]。之前鉴定得到的许多肿瘤抑制基因，如 *dlg* 和 *lgl*，也已经在果蝇中被证实具有调节细胞不对称分裂的作用[7]。另外，近年来有很多文献报道，细胞命运决定子功能缺失突变，如 *Pros*、*Brat* 以及 *Numb* 功能缺失突变，在果蝇发育过程中均会引发肿瘤[8-10]。这些发现都提示我们，细胞不对称分裂失调与肿瘤的发生可能有很大的相关性，揭示这些潜在的相关性，对于理解和干预肿瘤形成过程都有重大意义。

参 考 文 献

[1] Wu PS, Egger B, Brand AH. Asymmetric stem cell division: Lessons from *Drosophila*. Semin

Cell Dev Biol，2008，19：283-293

[2] Rhyu MS，Jan LY，Jan YN. Asymmetric distribution of numb protein during division of the sensory organ precursor cell confers distinct fates to daughter cells. Cell，1994，76：477-491

[3] Horvitz HR，Herskowltz I. Mechanisms of asymmetric cell division：two Bs or not two Bs，that is the question. Cell，1992，. 68：237-255

[4] Prokopenko SN，Chia W. . When timing is everything：role of cell cycle regulation in asymmetric division. Semin Cell Dev Biol，2005，16：423-437

[5] 吴克复 . 肿瘤微环境与细胞生态学导论 . 北京：科学出版社，2009

[6] Gonzalez C. Spindle orientation，asymmetric division and tumour suppression in *Drosophila* stem cells. Nat Rev Genet，2007，8：462-472

[7] Lee CY，Robinson KJ，Doe CQ. Lgl，Pins and aPKC regulate neuroblast self-renewal versus differentiation. Nature，2006，439：594-598

[8] Bello B，Reichert H，Hirth F. The brain tumor gene negatively regulates neural progenitor cell proliferation in the larval central brain of *Drosophila*. Development，2006，133：2639-2648

[9] Betschinger J，Mechtler K，Knoblich JA. Asymmetric segregation of the tumor suppressor brat regulates self-renewal in *Drosophila* neural stem cells. Cell，2006，124：1241-1253

[10] Choksi SP，Southall TD，Bossing T，et al. Prospero acts as a binary switch between self-renewal and differentiation in *Drosophila* neural stem cells. Dev Cell，2006，1：775-789

撰稿人：何大澄

北京师范大学

审稿人：陈晔光　孙青原

细胞核的高度有序组构与基因组的功能是怎样的关系？

How Does High-Order Organization of the Cell Nucleus Correlate with Genome Functions?

真核生物的基因组被包裹在平行排列、相互重叠的两层膜（核膜）中，构成一个称之为细胞核的细胞器。基因组的转录、RNA 的加工在细胞核内进行。核膜上镶嵌有核孔复合体，是细胞核与细胞质间物质交换的通道。

近年来对细胞核的结构和功能研究的一个重要发现是明确了细胞核内染色质（基因组）和染色质间区域（核质）不是随机分布的，而是高度有序的。首先，单个染色体的染色质不是弥散在整个细胞核中的，而是集中分布于特定的三维空间，构成相对独立的“染色体领地”（chromosome territory）[1]，但在基因转录活化过程中，染色质有时会伸出自己领地，造成不同染色体领地间相互“入侵”[2]。其次，染色体领地在细胞核内部也不是随机分布的，多基因、高转录活性的染色体领地（如人的第 19 号染色体）集中在细胞核内部，而寡基因、低转录活性的染色体领地（如人的第 18 号染色体）则分布在靠近核膜的位置，呈径向（沿着细胞核中心与核膜间的轴向）分布模式[1]。另外，染色体领地内部也呈现径向的分布模式，如低转录活性的异染色质主要分布在除核孔复合体外的核膜附近及核仁周围，而高转录活性的常染色质则分布在细胞核的内部。有些物种（如小鼠和拟南芥），异染色质在间期细胞核内形成显微镜下可明显区分的染色中心（chromocenter），这些染色中心在空间上多靠近核膜和核仁[3]。活细胞时序跟踪观察表明，染色质在间期细胞核中的位置是相对固定的，主要在小空间范围内移动[3,4]，然而长距离的定向移动（1～5μm)有时也可观察到[4]。

除染色质外，细胞核中还有核质，包括大量蛋白质和 RNA 等分子以维持和调节基因组的功能。核质也是高度不均一的，包含不同种类的亚细胞核结构体即核体（nuclear body）[5]，它们包括核散斑体（nuclear speckle）、近核散斑体（paraspeckle)、核仁（nucleolus)、近核仁体（perinucleolar compartment)、卡哈尔体（Cajal body)、劈开体（cleavage body)、螺旋体双子（gemini of coiled body)、OPT 体（OPT domain)、SAM68 体（SAM68 nuclear body)、多型间期核质辅助物（polymorphic interphase karyosomal association，PIKA）、Polycomb 体（PcG body)、早幼粒细胞白血病体（promyelocytic leukaemia body，PML body）等。在植物细胞核中还有与小 RNA 代谢有关的核剪切体（nuclear dicing body，

D-body)[6]及与光信号传导有关的多种核体。这些核体形态、数目、组分不同。荧光漂白后恢复分析发现绝大多数蛋白质在核体中呈高度动态状，在核体和弥散在核质中的蛋白质组分不断交换，但是不同蛋白质交换的速度可能不同。

染色质在细胞核内的高度有序化、结构化以及产生的各种不同的核体对基因组的功能如转录、复制、修复、易位等有重要影响。虽然细胞核的高度有序组构与基因组的功能之间的关系在很大程度上仍然是一个谜，但近年来，尤其是活细胞显微成像技术的应用，使得我们对细胞核功能化结构有了初步的认识[7]。证明基因在核内的三维空间位置与其表达有关的直接证据如下：一些基因在活化过程中从富含异染色质的核膜附近移向富含常染色质的细胞核深处，有的基因还移向特定核体（如核散斑体）的附近或内部。也许细胞核深处或者核散斑体内部及周围各种基因表达调控因子丰度更高一些，有利于基因的高效转录和 RNA 的加工。另外，属于同一代谢途径的基因可能共用一些调节因子，它们可共同转录形成一个小的亚细胞核染色质域或转录工厂（transcriptional factory）。核孔复合体周围的微环境也影响基因表达。此外，基因组的结构也影响 DNA 复制，靠近核膜的异染色质往往最后复制。

在 DNA 修复和易位过程中，往往涉及 DNA 断裂点的连接。染色质在细胞核内的高度有序化有利于 DNA 断裂点的接近和连接，这有利于基因组的稳定和进化。除染色质外，细胞核质中各种核体的产生也为细胞核功能的空间分区提供了基础，可使得它们更加高效、精确、不相互干扰，更好地调节基因组的功能。基因组的这种高度有序结构是如何产生、是由什么因素决定的呢？初步的研究结果支持“自我构建”假说[8]，即基因组的三维结构和动态是由基因组本身决定的，反过来，这种结构和动态又可维护基因组的功能。

尽管细胞核研究已取得很大进展，但仍有很多未知领域需要探索，如染色质≥30nm 的三维高级结构和动态是如何的，这种结构在不同细胞类型、生物体生长发育及细胞分化过程中表现又是如何？基因组的三维细胞核结构是由什么因素决定的？在细胞分裂过程中是如何重建的？在基因活化过程中，染色质是否解聚，程度如何？活化基因的三维空间位置是否变化，与空间近邻基因的关系如何？反过来，基因组的三维定位是如何影响基因组的转录、复制、修复、易位的？此外，在细胞核中可能还有很多核体有待鉴定，而且已知核体的组分、动态和功能有很多是未知的。

细胞核是一个极其复杂的细胞器，各种不同信号最终都要直接或间接地传递到细胞核，导致基因的活化或沉默。因此，细胞核的细胞生物学研究是非常重要的，它将是今后研究热点之一。新技术尤其是各种不同荧光标记物的开发及超高分辨率的活细胞成像技术的发展必将对微小细胞核的研究提供重要基础。

参 考 文 献

[1] Cremer T，Cremer C. Chromosome territories，nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells. Nat Rev Genet，2001，2：292-301

[2] Branco MR，Pombo A. Intermingling of chromosome territories in interphase suggests role in translocations and transcription-dependent associations. PLoS Biol，2006，4：e138

[3] Fang Y，Spector DL. Centromere positioning and dynamics in living Arabidopsis plants. Mol Biol Cell，2005，16：5710-5718

[4] Chuang CH，Carpenter E，Fuchsova B，et al. Long-range directional movement of an interphase chromosome site. Curr Biol，2006，16：825-831

[5] Spector DL. SnapShot：Cellular bodies. Cell，2006，127：1071

[6] Fang Y，Spector L. Identification of nuclear dicing bodies containing proteins for microRNA biogenesis in living Arabidopsis plants. Curr Biol，2007，17：818-823

[7] Takizawa T，Meaburn J，Misteli T. The meaning of gene positioning. Cell，2008，135：9-13

[8] Misteli T. Self-organization in the genome. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106：6885-6886

[9] Swedlow J，Goldman RD，Spector DL. Live-cell imaging：A laboratory manual，2th edition. Cold Spring Harbor：Cold Spring Harbor Laboratory Press，2009

撰稿人： 方玉达

中国科学院上海生命科学研究院

审稿人： 何大澄　薛红卫

细胞有丝分裂后期所有成对染色单体同时分离的信号如何传递？

How Does Dynamic Signaling Control Simultaneous Segregation of Chromosomes at Mitotic Anaphase?

在有丝分裂间期（S 期），细胞的染色质进行复制。复制后的两条姐妹染色单体相互连接在一起。从纺锤体两极发出的微管正极分别与姐妹染色单体的着丝粒相结合，而其负极则连在中心体上。到有丝分裂中期，染色体两侧的微管（纺锤丝）相互牵拉达到平衡，使染色体保持在赤道板上。在成对的姐妹染色单体移向赤道板的过程中，染色体的到达总会有先有后，而当最后一个染色体定位正确，所有成对的染色单体就会同时分离，这标志着有丝分裂后期开始。在缩时电影中，最后一个染色体的到达似乎是一个号令，所有染色单体瞬间分离并移向两端，呈现十分令人惊叹的景象（图 1）。

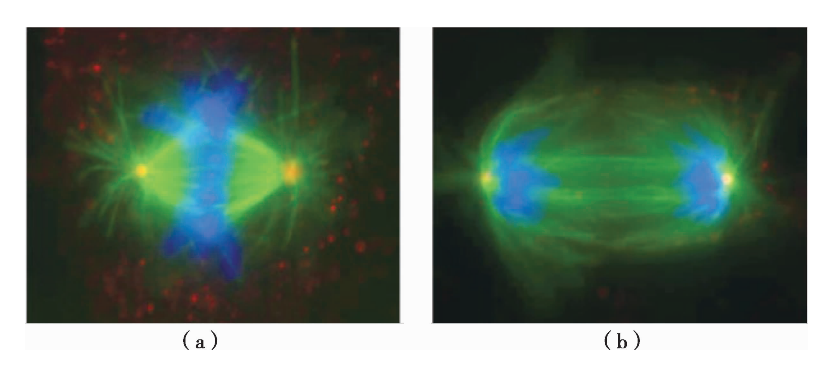


图 1　袋鼠 PtK2 细胞中期（a）向后期（b）的转换[1]

α-微管蛋白，绿色；中心体，红色；DNA，蓝色

这个号令是如何发放和传递的？研究这个问题的重要意义有三。

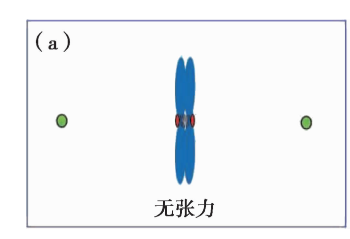
其一，它对保证细胞正确而有效地分裂太重要了。有丝分裂后期一旦启动就是不可逆的。如果一个细胞分裂进入后期时个别染色体还没有被来自纺锤体两极的微管正确牵拉，那么分裂的子细胞中就会出现染色体缺失或多余的现象。多数这样的细胞会死亡，而少数也可能走向癌细胞。因此有丝分裂后期刚刚开始的时间点是细胞周期的一个重要检验点，称为纺锤体检验点[2,3]。

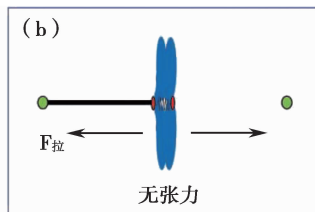
其二，这个系统是一个从机械力的感受瞬间转化为化学信号的难得的典范。

其三，最后一个染色体到位的信号，使得并不直接与之接触的，所有的染色体

同时分离，说明这一信号是相对“远程”并且是“群发”的。笔者认为，这也许代表了细胞中信号传递的一种尚少研究的新类型。

首先的一个问题是，细胞如何感知染色体“到位”和姐妹染色单体上的着丝粒从相对两极获得稳定接触？是什么触发了信号的产生？迄今的研究表明，把姐妹染色单体连接在一起的是一种“染色单体连接蛋白”——Cohesin。当姐妹染色单体双侧都被纺锤丝拉紧时，着丝粒上即产生机械张力，克服 Cohesin 的连接功能，而把姐妹染色单体分别拉向两极[7,8]（图 2）。细胞可能正是通过感受张力来判断姐妹染色单体是否已连接正确，并发出信号。一个设计巧妙有趣且更为直接的实验证据是，在昆虫精母细胞减数分裂中，当有丝分裂后期的启动因为一个染色体没有得到双侧拉紧而迟滞，用显微操作器的玻璃针去拉紧相连的微管，所有染色单体的分离和迁移就可以被人为启动[9]！这表明，机械张力确实是信号的触发者。





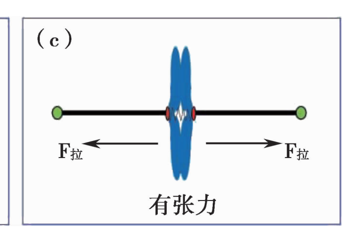


图 2　姐妹着丝粒（红色）通过纺锤体两极微管的连接（黑线）产生张力[10]

当微管未连接到成对姐妹染色单体上时，不能产生张力（a），当纺锤体只有一极（绿色）微管连接到染色单体上时，不产生或产生很小的张力（b）。但是，当纺锤体两极微管均连接到姐妹着丝粒上时，成对着丝粒上产生能够将姐妹染色单体拉开的张力（c）。张力大小通过成对姐妹着丝粒的间距显示

那么“张力”如何被感受，又如何转化为化学信号？它们是如何调控纺锤体检验点活性的呢？经过多位研究者实验，提出可能存在一些“张力感受蛋白”，它们在机械力作用下能够发生磷酸化的改变。1993 年，Gorbsky 等[11]发现有丝分裂中期未完成排列的染色单体在着丝粒上出现大量的被 3F3/2 单克隆抗体识别的磷酸化表位。一旦获得纺锤丝的拉紧，就会发生去磷酸化而不再被该抗体识别。从而揭示磷酸化作用在分裂中期染色体运动中可能起到调节作用，这将分裂中期信号与磷酸化联系起来。1998 年，Nicklas 等[12]提出“张力感受”可能包含激酶、磷酸酯酶和底物蛋白的一个完整的磷酸化系统。后来又通过体外施加张力的磷酸化检测实验，排除了磷酸酯酶作为“张力感受蛋白”的可能性，提出“张力感受蛋白”或者为激酶，或者为底物蛋白。2005 年，Ahonen 等发现，一个磷酸激酶 polo-like kinase 1（Plk1）能够激活着丝粒上底物蛋白的磷酸化，使其产生能够被 3F3/2 单克隆抗体识别的磷酸化表位，并且表明机械张力调节着丝粒上 Plk1 的数量，甚至有可能调节其激酶活性[13]。至于张力究竟怎样引发磷酸化的变化，这就是要依靠结构生物

学家和生物化学家去解决的一个重要而有趣的问题了。

对于接到信号后，染色单体分离过程的分子机制现在已有了相对较多的了解。如前所述，姐妹染色单体被 cohesin 所连接，一个“分离酶”Separase 负责水解 cohesin，而另一个蛋白质 Securin 又通过与 Separase 的结合抑制其活性。当所有染色单体都已正确连接到纺锤丝上之后，有丝分裂检验点蛋白复合体 Mad2、BubR1 和 Bub3 等解除与“后期启动复合物”APC/C（anaphase promoting complex 或叫 cyclosome）的结合，后者发挥针对 Securin 的泛素连接酶活性[1,4,5]，于是 Securin 被通过泛素化途径降解，“分离酶”Separase 激活。最终 Cohesin 被 Separase 水解，姐妹染色单体分离，细胞即进入分裂后期[1,5]（图 3）。

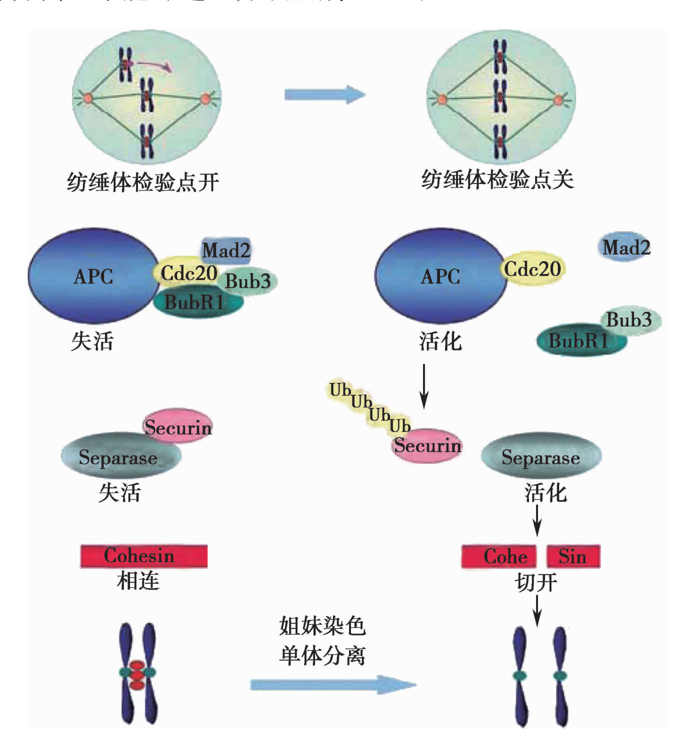


图 3 染色体分离的分子机制[6]

分裂中期向后期转换过程中，当姐妹染色单体在纺锤丝上连接错误时，纺锤体检验点促进检验点蛋白复合体的合成，抑制 APC/C 活性，不能泛素化 Securin 蛋白使其分解，染色单体通过 Cohesion 蛋白保持连接，分裂后期延迟。染色单体在纺锤丝上连接准确时，APC/C^{Cdc20}泛素化 Securin，使其分解，从而激活 Separase，Separase 能水解 Cohesin 的 Scc1 亚基，染色单体分离，细胞分裂进入后期

虽然有了上述的进展，但我们几乎还没有触及最根本的问题，即：①每一个被双侧拉紧的着丝粒按前述的道理都会产生机械张力引发的信号，那么为什么只有

“最后一个”才能启动后期的事件呢？②机械张力产生的化学信号是如何向其他染色体传递的呢？是通过扩散达到所有其他染色体（着丝粒）；或是沿着微管，再以中心体为中转站，达到其他的着丝粒；或者可以借助着丝粒之间的连丝？目前对于这些问题还没有明确的研究。由于该现象发生在极其微小的着丝粒上，并且时间上极其迅速，又与信号接收者并不直接连接，所以此难题破解起来具有很高的难度。此外，关于磷酸化的精细分析在技术上历来就是一个难题，这又为此项研究增加了一道障碍。所以，要想最终弄清楚细胞在有丝分裂中，最后一个染色体定位正确时，所有成对染色单体即同时分离这一现象中的信号传递，还需要大量更为深入的研究。而染色体分离的调控很可能并非细胞中采用这种信号传递方式的唯一例子。

关于第一个问题，有研究者认为，染色单体开始分离需要的起始信号（或者对抑制的解除信号），都需要达到某一特定阈值，而只有当最后一个染色体到达位置后，信号才能累积到染色单体分离的阈值。但鉴于“最后一个染色体”只能产生相当有限的信号物质（对人来说大约是总量的 1/23，即 4.4%），此种控制模型中，信号改变的强度显然不足，很容易发生错误，即在进化中将缺少优势。因此笔者建议一个完全不同的模型，即机械张力在着丝粒触发的根本不是某种信号的发生，而是一种信号的停止。该信号只要极低的量，就足以抑制染色单体的分离。所以当最后一个染色体定位完成时，抑制信号完全解除（从 1 到 0），姐妹染色单体得以同时开始分离。这样，第二个问题的解决也就简单得多了。

参 考 文 献

［1］ Nasmyth K. Segregating sister genomes：The molecular biology of chromosome separation. Science，2002，297：559-565

［2］ Musacchio A，Hardwick KG. The spindle checkpoint：Structural insights into dynamic signalling. Nat Rev Mol Cell Biol，2002，3：731-741

［3］ Cleveland DW，Mao Y，Sullivan KF. Centromeres and kinetochores：From epigenetics to mitotic checkpoint signaling. Cell，2003，112：407-421

［4］ Zou H，McGarry TJ，Bernal T，et al. Identification of a vertebrate sister-chromatid separation inhibitor involved in transformation and tumorigenesis. Science，1999，285：418-422

［5］ Nasmyth K，Peters JM，Uhlmann F. Splitting the chromosome：cutting the ties that bind sister chromatids. Science，2000，288：1379-1384

［6］ Bharadwaj R，Yu H. The spindle checkpoint，aneuploidy，and cancer. Oncogene，2004，23：2016-2027

［7］ Nicklas RB. Chance encounters and precision in mitosis. J Cell Sci，1988，89：233-285

［8］ Rieder CL，Salmon ED. Motile kinetochores and polar ejection forces dictate chromosome position on the vertebrate mitotic spindle. J Cell Biol，1994，124：223-233

［9］ Li X，Nicklas RB. Mitotic forces control a cell-cycle checkpoint. Nature，1995，373：

630-632

［10］ Zhou J，Yao J，Joshi HC. Attachment and tension in the spindle assembly checkpoint. J Cell Sci，2002，115：3547-3555

［11］ Gorbsky GJ，Ricketts WA. Differential expression of a phosphoepitope at the kinetochores of moving chromosomes. J Cell Biol，1993，122：1311-1321

［12］ Nicklas RB，Campbell MS，Ward SC et al. Tension-sensitive kinetochore phosphorylation *in vitro*. J Cell Sci，1998，111：3189-3196

［13］ Ahonen LJ，Kallio MJ，Daum JR. Polo -like kinase 1 creates the tension-sensing 3F3/2 phosphoepitope and modulates the association of spindle-checkpoint proteins at kinetochores. Curr Biol，2005，15：1078-1089

撰稿人：何大澄　张　培

北京师范大学

审稿人：陈晔光　孙青原

细胞中各种物质精确有序转运的分子机制是什么？

What Are Molecular Mechanisms Controlling Precise Targeting of Intracellular Substances?

细胞是生命的基本组成单位，平均直径约 50μm，一般由细胞膜包围，其中容纳了功能形态各不相同的各种细胞器、囊泡以及大量蛋白质分子、核糖核酸、脂类分子等。细胞进行生理活动需要与周围环境进行持续的物质和信息交流，包括摄取各种营养物质、接收外界信号并作出反应、通过分泌信号分子（如激素、生长因子、细胞因子等）向邻近细胞发出信息等。而细胞内部的物质运输是完成上述种种生理活动的物质基础。正如塞车会导致城市交通瘫痪，细胞内物质运输一旦被阻断将影响细胞的正常生理功能，并导致多种疾病，例如β细胞的胰岛素分泌受阻导致糖尿病，色素细胞中黑色素运输缺陷导致白化病，神经轴突中从末梢到细胞体的运输发生障碍将导致轴突萎缩、神经元死亡，进而引起神经退行性病变。

细胞内的运输系统由被运载的货物、轨道和提供动力的蛋白质分子组成，正如货物可由各种运输工具（如汽车、火车、飞机、船只）沿着公路、铁路、航线分别运送到指定地点一样。经过多年的研究，科学家发现三大类细胞骨架中具有极性的微管和微丝均可充当物质运输的轨道；动力蛋白分子识别并结合微管或微丝，一般通过水解 ATP 获得的能量，这样动力蛋白质分子就可以带动承载的货物沿着微管或微丝蛋白聚合形成的轨道上沿特定方向移动。这些为胞内运输提供动力的蛋白质分子因此被形象地称为马达蛋白（motor protein）。动力蛋白运载的货物形形色色，包括各种细胞器如线粒体、高尔基体；各种蛋白质分子、核糖核酸甚至一些病毒颗粒等。生活中人们寄送邮件，会在邮件上标明收件人的姓名地址，由邮局等物流机构将邮件集中、分拣，精确递送到收件人手中。细胞内的成千上万种货物又是怎样被标记，如何被不到一百种的分子马达识别，并且将它们精确运送到相应的地点的呢？

1999 年的诺贝尔生理/医学奖授予美国洛克菲勒大学的细胞生物学家 Gunter Blobel，以表彰他对于蛋白质分子信号肽的发现（具体信息请参阅：http：//nobelprize. org/nobel _ prizes/medicine/laureates/1999/）。信号肽对于单个膜蛋白分子来说，相当于信件上的邮政编码，可以指引新合成的蛋白质分子定位于特定的细胞器膜结构，如细胞核膜、内质网、高尔基体、线粒体、细胞质膜等[1]。除了信号肽，对于被包裹于膜状小泡（囊泡）内的各种货物来说，它们又是如何被识别并定向运输呢？在细胞水平这个大问题可分解为几个环节：货物的分拣和包装、货物识

别、主动运输以及货物下载及膜融合。对于膜融合的研究表明，在供体和受体膜之间的识别和融合需要一类叫做 SNARE 的蛋白质分子。每种作为供体的囊泡膜上其 SNARE 蛋白复合体（v-SNARE）在受体膜上都有对应的 SNARE 蛋白复合体（t-SNARE），它们之间的特异性识别保障了囊泡和靶细胞器之间的特异性融合，最终将囊泡所携带的货物释放到相应的地方比如细胞器中或细胞外。例如神经细胞和靶细胞之间的通讯大多通过神经递质传递来实现。神经末梢形成的突触结构中存在大量携带神经递质的突触囊泡，在动作电位的刺激下，它们膜表面存在的 v-SNARE被突触部位细胞质膜内侧的 t-SNARE 所识别，这样突触囊泡就能与细胞质膜发生膜融合从而将神经递质释放到细胞外的突触间隙，从而介导神经元和靶细胞之间的信息传递[2]。

货物识别方面的研究还发现提供运输驱动力的动力蛋白复合体中所含的一些亚基可特异性识别相应的货物[3,4]；同时，囊泡货物表面也存在的特定蛋白质分子可以作为介导分子被动力蛋白识别[5-8]。这些介导分子称为适配器，它们将特定货物与相应的动力蛋白连接起来，这样动力蛋白就锚定在囊泡货物的表面。细胞内要运送的货物种类繁多，但目前仅发现了为数不多的在动力蛋白对货物的特异性识别中起作用的介导分子，因此可能还有大量的介导分子有待发现。货物的分拣是高度复杂而精密的动态过程，需要多种功能各异的蛋白质以及脂类分子协同作用[9,10]，具体的分子机制仍有待阐明。

另外，当动力蛋白从供体膜携带经过分拣包装的货物到达相应的目的地时，它如何知道这是正确的送货地址并将货物卸载？另外，货物的介导分子在运输过程中以及运输结束、货物到达目的地以后的命运如何？它们如何从囊泡货物上解离下来？这一步骤发生在囊泡和受体膜融合之前还是同时？目前对于这些问题的了解还极其有限。可以预测的是这些过程仍然需要多种生物大分子，包括动力蛋白的介导因子以及具有粘合/锚定作用的蛋白质分子之间的协作，并且有可能需要蛋白质分子通过构象变化来改变彼此之间的亲和性，以促使动力蛋白释放与之相联的货物分子。对于货物卸载分子机制的探讨将成为细胞内物质运输的一个研究重点。

参 考 文 献

［1］ Lingappa VR，Blobel G. Early events in the biosynthesis of secretory and membrane proteins：the signal hypothesis. Recent Prog Horm Res，1980，36：451-475

［2］ Sudhof TC，Rothman JE. Membrane fusion：grappling with SNARE and SM proteins. Science，2009，323：474-477

［3］ Tai AW，et al. Rhodopsin's carboxy-terminal cytoplasmic tail acts as a membrane receptor for cytoplasmic dynein by binding to the dynein light chain Tctex-1. Cell，1999，97：877-887

［4］ Yano H，et al. Association of Trk neurotrophin receptors with components of the cytoplas-

mic dynein motor. J Neurosci，2001，21：RC125

[5] Engelender S，et al. Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) interacts with the p150Glued subunit of dynactin. Hum Mol Genet，1997，6：2205-2212

[6] Holleran EA，et al. Beta III spectrin binds to the Arp1 subunit of dynactin. J Biol Chem，2001，276：36 598-36 605

[7] Hoogenraad CC，et al.，Mammalian Golgi-associated Bicaudal-D2 functions in the dynein-dynactin pathway by interacting with these complexes. EMBO J，2001. 20：4041-4054

[8] Johansson M，et al. Activation of endosomal dynein motors by stepwise assembly of Rab7-RILP-p150Glued，ORP1L，and the receptor {beta} lll spectrin. J Cell Biol，2007，176：459-471

[9] Cai H，Reinisch K，Ferro-Novick S. Coats，tethers，Rabs，and SNAREs work together to mediate the intracellular destination of a transport vesicle. Dev Cell，2007，12：671-682

[10] Nickerson DP，Brett CL，and A. J. Merz，Vps-C complexes：gatekeepers of endolysosomal traffic. Curr Opin Cell Biol，2009，21：543-551

撰稿人：刘佳佳

中国科学院遗传与发育生物学研究所

审稿人：何大澄　黄　勋

植物的细胞壁是怎样形成的？

How Is Plant Cell Wall Formed?

英国科学家罗伯特·胡克（Robert Hooke）在1665年用自制的光学显微镜观察软木塞的薄切片时，创造性地用“cell”一词（我们现在翻译为“细胞”）来描述观察到的小空间为植物体基本结构单元时，他实际上看到的是软木细胞的细胞壁（cell wall）。几个世纪后的，2005年，*Science*杂志在庆祝建刊125年时，征集了人类所面临但还不知道的125个问题，植物细胞壁是怎样形成的以及怎样为人类提供未来能源的秘密便是问题之一[1]。在300多年前，植物细胞壁是首次观察到的细胞结构，为何至今植物细胞壁的形成还是全球高度关注的一个科学问题？

细菌、真菌和植物细胞都具有细胞壁结构，但是动物细胞没有。植物细胞壁虽然最早被观察到，但在生物研究领域认为它只是一种死亡的细胞结构，故长期以来没能引起研究者们的浓厚兴趣而加以系统地研究。随着现代科学的发展，人们发现植物细胞壁不完全是死亡的细胞结构，它与植物生长发育密切相关，与植物或整个生物的进化以及对环境的适应密切相关，与碳汇和碳循环密切相关，更为重要的是，植物细胞壁储藏了陆地上植物通过光合作用所固定的二氧化碳和太阳能的90%以上，被认为是具有巨大开发潜力的可再生资源，可以提供人类所需的能源、纤维和化工产品。对植物细胞壁的认识是利用这一丰富可再生资源的科学基础。

植物细胞壁是在细胞质膜外形成的细胞外壳结构，分为初生壁和次生壁。组成初生壁的物质包括纤维素、半纤维素、果胶质以及一些蛋白质。在次生壁中，主要有纤维素、半纤维素和木质素。植物所有细胞都会形成初生壁，但次生壁只是在一些厚壁细胞中形成，有些细胞具有多层次生壁。植物能巧妙地调控细胞壁的合成，使不同组织的细胞具有不同细胞壁结构和组成，以确保各种细胞和植物整体生命功能得以实现。目前对细胞壁合成、调控以及其与细胞功能关系的认识还很肤浅，有很多问题有待回答。

1. 细胞壁为什么在植物细胞伸长过程中能够松弛？

植物长高长大是由于细胞数目增多（细胞分裂）和体积增大的结果。植物细胞在分裂后，需要进行有方向性的剧烈伸长（有时细胞的长度可增长很多倍）。植物细胞壁主要由多种大分子聚合物构成，这些大分子本身不具有弹性，不能扩展，那么细胞壁是怎样松弛来满足细胞伸长的需要的？有人发现细胞壁中有一类特异的称为expansin的蛋白质，这类蛋白质具有帮助细胞壁松弛的功能[2,3,4]。Expansin来

自一个庞大的家族基因，其如何松弛细胞壁目前还不清楚。细胞壁松弛包含一系列生化过程，涉及许多细胞壁大分子内部和大分子之间共价键的断裂和再形成。细胞伸长时，随着细胞壁的松弛，细胞壁会形成许多空隙，需要新合成的细胞壁聚合物及时填充并与原来的细胞壁构成统一的结构。仅仅依靠 expansin 是不够的，而目前对这一过程知之甚少。对细胞壁松弛的研究解将有助于了解植物如何控制细胞大小，调控形态建成，同时为培育速生和高生物产量的植物提供新的思路。

2. 多种多样的细胞壁是怎样形成的?

植物细胞壁主要由多聚物纤维素、半纤维素、果胶质和木质素构成。在植物体中大约有 40 多种不同类型的细胞，这些细胞会形成不同组成与结构的细胞壁，以满足其行使不同生物功能的需要。目前对组成细胞壁的多聚物是怎样合成的还不清楚，不同细胞壁的组成和结构又是如何通过调控形成的更是知之甚少。据估计，植物基因组中大约有 10％～15％的基因直接参与了细胞壁的合成，而目前只对其中的少数基因的功能有所了解。在半纤维素合成中发现多个编码半纤维素合成酶的基因[5-7]，估计还有更多基因没有被发现。纤维素合酶基因虽然已被发现，但纤维素合成的机理仍不清楚[7-9]。对于果胶质合成的了解就更缺乏了。木质素单体合成代谢途径在过去 10 多年中取得了巨大进展[10]，但木质素单体怎样转运通过细胞质膜，然后在细胞壁中聚合成木质素还是一个没有实验证据的猜想。此外，植物细胞通过形成不同的细胞壁结构来满足其生理功能的需要。如叶片气孔的保卫细胞通过形成不同的内外壁结构来控制气孔的关闭，棉花纤维细胞在细胞壁中合成几乎是纯的纤维素大分子等。植物如果通过巧妙的调控机制，使不同组织的细胞形成不同细胞壁的组成与结构？目前对这方面的探索还刚刚开始[11]。对植物细胞壁合成与调控的解析不仅能弥补细胞壁形成知识的空缺，也将对认识生物聚合物的合成机理、细胞结构与功能的关系等产生意义深远的影响。

3. 植物细胞壁作为丰富的可再生资源，如何能高效地被人类利用?

植物通过光合作用固定二氧化碳和太阳能，生成有机物，其固定的太阳能和二氧化碳 90％以上被储藏在细胞壁聚合物中，因此细胞壁聚合物是具有巨大开发潜力的可再生资源。利用细胞壁物质生产液体燃料被认为是唯一可能替代石油液体燃料的可再生能源[9,12-14]。此外，人类所需的植物纤维（如棉纤维、纸等），很多化工产品（如糠醛、果胶等）都来自细胞壁聚合物。无论是作为液体能源利用还是生产纤维材料，我们只利用了细胞壁聚合物中的一部分。如何高效利用植物细胞壁是目前有待解决的重要问题。影响植物细胞壁利用的问题不仅是加工利用过程，更为重要的是如何使细胞合成我们所需要的聚合物，并解决加工利用过程中利用效率低的瓶颈。在棉花纤维形成过程中，次生壁中只合成纤维素，木质素和半纤维素合成

都已停止，能否利用其来培养高产纤维素的细胞或功能植物呢？几年来已有多个实验室尝试通过基因工程手段，调控细胞壁的合成，取得了令人鼓舞的结果[16-19]。

为高效开发利用细胞壁资源，美国能源部制定了一系列细胞壁生物质研究计划。希望经过10～15年的努力，实现细胞壁生物质研究的突破，促进细胞壁生物质资源利用技术趋以成熟（http：//www1. eere. energy. gov/biomass/）。相关研究的进展与突破将会对创新细胞壁资源利用技术产生巨大的影响。

尽管现在每年都会有不少令人激动地发现和研究进展，但要完全回答*Science*杂志提出的问题还存在很多挑战。研究手段和方法的创新很重要，如最近转盘式共聚焦显微镜技术可以直接观察到纤维素合酶复合体的组装过程和在细胞质膜上的运动，对纤维素合成的认识产生了重要突破[20-22]，另外，植物细胞壁合成与生物进化、与碳汇和碳循环等的关系引起广泛关注[23-25]。

参 考 文 献

[1] Kennedy D，Norman C. So much more to know. Science，2005，309：78-102

[2] Sampedro J，Cosgrove DJ. The expansin superfamily. Genome Biol，2005，6：242

[3] Cosgrove DJ. Loosening of plant cell walls by expansins. Nature，2000，407：321-326

[4] Cosgrove DJ. Growth of the plant cell wall. Nat Rev Mol Cell Biol，2005，6：850-861

[5] Dhugga KS，Barreiro R，Whitten B，et al. Guar seed beta-mannan synthase is a member of the cellulose synthase super gene family. Science，2004，303：363-366

[6] Burton RA，Wilson SM，Hrmova M，et al. Cellulose synthase-like CslF genes mediate the synthesis of cell wall（1，3；1，4）-beta-D-glucans. Science，2006，311：1940-1942

[7] Lerouxel O，Cavalier DM，Liepman AH，et al. Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides-a complex process. Curr Opin Plant Biol，2006，9：621-630

[8] Pear JR，Kawagoe Y，Schreckengost WE，et al. Higher plants contain homologs of the bacterial celA genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase. Proc Natl Acad Sci USA，1996，93：12 637-12 642

[9] Somerville C. Cellulose synthesis in higher plants. Annu Rev Cell Dev Biol，2006，22：53-78

[10] Humphreys JM，Chapple C. Rewriting the lignin roadmap. Curr Opin Plant Biol，2002，5：224-229

[11] Zhong R，Ye ZH. Regulation of cell wall biosynthesis. Curr Opin Plant Biol，2007，10：564-572

[12] Somerville C. The billion-ton biofuels vision. Science，2006，312：1277

[13] Carroll A，Somerville C. Cellulosic biofuels. Annu Rev Plant Biol，2009，60：165-182

[14] Gura T. Driving biofuels from field to fuel tank. Cell，2009，138：9-12

[15] Lynd LR，Cushman JH，Nichols RJ，et al. Fuel ethanol from cellulosic biomass. Science，1991，251：1318-1323

[16] Pilate G，Guiney E，Holt K，et al. Field and pulping performances of transgenic trees with

altered lignification. Nat Biotechnol，2002，20：607-612
[17] Li L，Zhou Y，Cheng X，et al. Combinatorial modification of multiple lignin traits in trees through multigene cotransformation. Proc Natl Acad Sci USA，2003，100：4939-4944
[18] Chen F，Dixon RA. Lignin modification improves fermentable sugar yields for biofuel production. Nat Biotechnol，2007，25：759-761
[19] Vanholme R，Morreel K，Ralph J，et al. Lignin engineering. Curr Opin Plant Biol，2008，11：278-285
[20] Paradez A，Wright A，Ehrhardt DW. Microtubule cortical array organization and plant cell morphogenesis. Curr Opin Plant Biol，2006，9：571-578
[21] Paredez AR，Somerville CR，Ehrhardt DW. Visualization of cellulose synthase demonstrates functional association with microtubules. Science，2006，312：1491-1495
[22] Crowell EF，Bischoff V，Desprez T，et al. Pausing of Golgi bodies on microtubules regulates secretion of cellulose synthase complexes in Arabidopsis. Plant Cell，2009，21：1141-1154
[23] Hancock JE，Loya WM，Giardina CP，et al. Plant growth，biomass partitioning and soil carbon formation in response to altered lignin biosynthesis in Populus tremuloides. New Phytol，2007，173：732-742
[24] Weng JK，Li X，Stout J，et al. Independent origins of syringyl lignin in vascular plants. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：7887-7892
[25] Uzal EN，Gomez Ros LV，Pomar F，et al. The presence of sinapyl lignin in Ginkgo biloba cell cultures changes our views of the evolution of lignin biosynthesis. Physiol Plant，2009，135：196-213

撰稿人：李来庚
中国科学院上海生命科学研究院
审稿人：杨维才　薛红卫

植物对病原菌的先天免疫机制是什么?

Mechanisms of Plant Innate Immunity to Pathogens?

植物病害严重影响农作物的产量和品质，是危及我国食物安全的重大祸患。在我国由于单一品种的大面积推广、栽培技术的调整和气候变化等原因，重大病害如水稻稻瘟病、纹枯病、白叶枯病等出现的频率和面积明显增加。以稻瘟病为例，每年全国发病面积可高达 8000 万亩，造成产量损失基本在 10%左右，有的产区甚至颗粒无收，因此目前新品种的推广实行稻瘟病抗性的“一票否决”制。同时，以往危害较小的农作物病害，如水稻条纹叶枯病等，也呈逐年加重的趋势。目前防治农作物病害的主要手段是种植抗病品种和施用化学农药。然而现有的抗病作物品种存在育种周期长、抗性丧失快等重大技术障碍，而化学农药对环境的污染严重。最近出台的国家转基因生物新品种培育重大专项把抗病虫放在第一重要的位置，足以说明该领域对于我国农业生产的重要性。因此，系统阐明农作物抗病的分子机理，开发提高作物抗病能力的新技术和新方法，是保障我国粮食安全的根本措施之一。

最近 15 年，分子植物病理学在研究理论体系的发展、关键现象的解释和研究技术的更新等方面均取得了许多突破，是植物生物学前沿热点领域，每个月在 *Cell*、*Nature*、*Science* 等国际杂志上都有研究报道。同时，抗病新品种的培育和作为农药分子设计的候选靶标，在生物技术和农业生产上具有重要性。这方面的研究得到了世界上各科技发达国家的高度重视。越来越多的研究证明，尽管植物没有类似于动物的适应性免疫系统，但存在与动物类似的先天免疫反应（innate immunity），植物主要借助于先天免疫系统产生主动的抗病性。该系统可在未曾受到特定病原物预先诱导情况下，对病原体侵染发生快速防卫反应，保护植物的安全。目前研究得比较清楚的有两个先天免疫系统：①通过细胞表面受体系统感受病原菌（或微生物）共有的分子模式/特征（pathogen-associated molecular pattern，PAMP；或 microbe-associated molecular pattern，MAMP）激发基础或非特异性的抗病反应，这类受体也称模式识别受体（pattern recognition receptor，PRR），有时把这类免疫反应称为 PTI（PAMP-triggered immunity）[1-3]；②通过形式上更进化的抗病基因（*R*）编码的蛋白质直接或间接地感受病原菌分泌的特异性毒性因子（virulence protein，effector），激发植物的寄主专化性免疫反应，因此又称 ETI（effector triggered immunity）[4-6]。在进化上非特异抗性比基因对基因抗性更原始。一些基因资源已通过分子育种手段应用于作物新品种培育，证明作物抗病分子机理研究不但是植物基础科学发展的重要领域，而且在农业生产上也具有广阔的应用前景。

许多植物的抗病突变体也显示了形态上或发育上的变化，即抗病性与发育过程是相关的。这在生理生化上是可以理解的：植物的抗病性主要受3种激素（水杨酸、赤霉素和乙烯）的调控，而发育则受到其他一些生长激素的调控，这些激素之间的互作和动态平衡将影响到抗病性与发育。随着有关植物抗病与发育、抗逆等相互作用研究的深入，有望把植物的免疫反应放到一个更大的系统背景下进行研究，即利用系统生物学（systems biology）的观点和方法研究植物的免疫反应，这是目前植物生物学发展的一个前沿趋势，也关系到作物抗病性基因操作的应用前景[3,7]。

植物先天免疫仍然是一个刚刚开创的领域，有很多重要的科学问题尚未阐明，尤其是重要作物，包括禾本科模式作物水稻的抗病性体系及其免疫机制还是空白，对于抗病性与其他农艺性状之间、抗病性与抗逆性之间的交互作用（cross-talk）也不明了，严重制约了抗病性的转基因育种。因此，以建立作物重大病害防治的基础理论建立为目标，以模式植物水稻和拟南芥为主要研究对象，建议开展以下有关植物先天免疫分子机制的研究：①病原菌新的PTI与ETI信号分子（PAMP，effector）；②寄主PTI与ETI的新信号因子与相互作用[8,9]；③siRNA和R介导的抗病反应互作[10]；④广谱抗病基因与QTL的鉴定与功能机制[11]；⑤作物抗病高产的分子设计基础。这些研究不但可以在农作物抗病性形成的基础理论上做出创新性贡献、建立学术前沿，而且可以为农作物抗病育种提供具有自主知识产权的新策略、新技术和基因资源。

参考文献

[1] Asai T，Tena G，Plotnikova J，et al. MAP kinase signalling cascade in Arabidopsis innate immunity. Nature，2002，415：977-983

[2] Petersen M，et al. Arabidopsis map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. Cell，2000，103：1111-1120

[3] Chinchilla D，Zipfel C，Robatzek，et al. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. Nature，2007，448：497-500

[4] Innes RW. Cleavage of Arabidopsis PBS1 by a bacterial type Ⅲ effector. Science，2003，301：1230-1233

[5] Kay S，Hahn S，Marois E，et al. A bacterial effector acts as a plant transcription factor and induces a cell size regulator. Science，2007，318：648-651

[6] Kim MG，da Cunha L，McFall AJ，et al. Two pseudomonas syringae type III effectors inhibit RIN4-regulated basal defense in *Arabidopsis*. Cell，2005，121：749-759

[7] Fu D，Uauy C，Distelfeld A，et al. A kinase-START gene confers temperature-dependent resistance to wheat stripe rust. Science，2009，323：1357-1360

[8] Nomura K，Debroy S，Lee YH，et al. A bacterial virulence protein suppresses host innate

immunity to cause plant disease. Science，2006，313：220-223

[9] Rosebrock TR，Zeng L，Brady JJ，et al. A bacterial E3 ubiquitin ligase targets a host protein kinase to disrupt plant immunity. Nature，2007，448：370-474

[10] Navarro L，Dunoyer P，Jay F，et al. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. Science，2006，312：436-439

[11] Mou Z，Fan W，Dong X. Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. Cell，2003，113：935-944

撰稿人：何祖华

中国科学院上海生命科学研究院

审稿人：卢从明　李颖章

作物驯化的靶标与生理基础是什么?

What Are Targets and Physiological Basis of Crop Domestication?

人类目前种植的所有作物都是人工选择即驯化（domestication）的产物，农作物驯化是一个人工选择、遗传适应的过程。人类祖先通常按自身需要无意识地选择作物的表型，经过人类不断重复选择，创造出满足自身需要的农作物形式。现代作物有几种明显区别于其祖先的特征表型：果实的大小（满足人类对量的需求），果实的颜色（更容易和其他东西如土壤等区分），增加作物的顶端优势（像玉米和高粱等使主茎更加突出，产量更高），整株作物更加强壮（减少分蘖），失去种子在自然界飘散的能力（更有利于人类的采摘）。同时在驯化过程中，作物的生理特性也发生了明显的改变：如减小种子的休眠（有利于人类的保存和种植需要），降低果实苦涩的程度（满足人类的口感需求），根据不同的栽培地点改变作物对光周期的适应（适合作物完成生活周期），作物果实成熟的同步性（有利于种子的采摘）等[1]。此外，在驯化过程中，也存在对光、温、水、养分利用的基因根据不同的作物与地理生态进行的人工选择[2]。

在作物驯化的过程中，遗传物质不断发生变化。人工选择有两种方式，一种是选择已经存在于群体中的基因，像控制番茄果实大小的 *fw2.2* 基因和控制玉米顶端分生组织的 *tb* 基因[3,4]。另一种是保留新突变的基因，如控制水稻落粒性的 *sh4* 基因和玉米的 *tga* 基因，它们不存在于作物祖先的群体中，是通过保留新突变的基因而获得[5,6]。因此驯化过程往往是对作物重要农艺性状向高效和优质方向的改良。但同时人工驯化过程也使一些有重要应用价值的野生基因在栽培作物中消失或者改变[7,8]。在早期的驯化过程中，人类从有限数量的群体中挑选喜欢的个体，因此，驯化作物祖先的遗传多样性会被降低。在选择过程中，那些呈现好的性状的种子被保留下来，这个过程也会使作物的遗传多样性逐渐降低，这两种原因逐渐形成了一种遗传上的瓶颈。通常的情况下，遗传瓶颈和作物开始驯化时的起始群体以及驯化时间的长短有关。值得注意的是，在整个基因组水平上，并不是所有的基因都经历相同的瓶颈变化。那些不被人类注意的性状，就不会受到人工选择，因此我们称这些基因为中性基因。中性基因失去遗传多态性只是由于遗传瓶颈引起的；如果一个基因控制的性状是人类选择所保留的，那么在作物选择过程中只会保留该基因的一个等位基因而失去其他等位基因，这个基因就表现遗传多态性降低。如果受驯化作物祖先中存在大量和驯化相关的基因，那么驯化过程便是把这样的基因选择性的保留下来，使其在作物中占主导地位[1,7,8]。

在过去十年中，研究者已经开始鉴定控制驯化特征表型的基因。这些性状往往是多基因控制，因此研究这些性状主要是 QTL 克隆和之后的功能性分析。已经克隆的重要农艺性状基因包括水稻落粒性 *sh 4* 和 *qSH 1* [5,9]、红米基因 *Rc*、灌浆基因 *GIF 1* [10]、籽粒大小基因 *qSW 5* 、直立基因 *PROG 1* [11,12]、糯性基因 *Waxy*、玉米分枝基因 *tb 1* [3]、玉米颖苞基因 *tga 1* [6]、番茄果实大小基因 *fw 2. 2* 和 *fas 1* [4]、番茄自花授粉基因 *Style 2. 1* [13]，此外，还有番茄果实形状基因 *IQD 12* 、小麦穗形基因 *Q*、小麦种子蛋白质含量基因 *Gpc-B 1* 等。

驯化基因的分子特征，主要有以下几个方面：①控制典型的作物驯化特征表型的基因一共有 11 个，其中 9 个是转录因子。从有限的几个基因中我们发现，基因缺失可能会使整个植物的适应性受到很大影响，因此这些遗传适应往往都是在基因的调节区，这和自然选择压力下分子进化的特征类似；②在控制品种之间差异的基因中，缺失突变就变得相对普遍，但也存在调控序列的变化，因此这一部分基因的驯化特征不是很明确；③控制复杂形态和单一生理性状的驯化基因存在明显不同的特征。前者以转录因子居多，而且以顺式作用元件突变为主；而在控制单一性状的基因中，代谢酶类占了很大一部分，其中编码和调节区突变都很普遍。作物驯化研究主要依赖于两种实验方法，一是经典的由表型到基因的 QTL 克隆；二是由群体遗传验证基因，再由基因到表型。在研究受驯化基因时发现，在基因组中受驯化基因周围的核苷酸多态性减少，LD 也会随驯化基因选择而增加。随着作物基因组项目的迅速发展，大规模鉴定作物驯化靶标基因成为可能。

对驯化基因的发掘研究及其机制的方法将大大加快作物驯化的研究，同时也将为高产、优质、高效育种提供理论基础与基因资源。有几个重要的领域值得我们关注：①有哪些重要农艺性状是驯化的靶标及其选择的生理和分子遗传机制？②驯化基因在育种中是否能够再次被利用？一个重要的突破是水稻灌浆基因 *GIF 1* 通过一定的表达调控可以增加产量[10]。我们相信可以把更多的驯化基因在作物中进行表达修饰，从而能够改良现有作物的生产潜力；③能否通过研究受驯化的基因设计新的作物？现在，在玉米中已经构建了人工染色体，并且能够相对稳定遗传。随着科技不断进步，将来可以把许多受驯化的基因聚合到一个人工的染色体上，创造一种明显有别于当前作物的新型作物。国际上已初步建立了野生稻基因组计划(I-OMAP：http：//www. gramene. org/cmap/omap. html)。我国是栽培稻发源地之一，具有丰富的野生稻与栽培稻资源。我国粮食安全与水稻育种（包括分子育种）的瓶颈问题需要我们深入研究栽培稻基因的功能驯化机制。建议以水稻为模式，进行前瞻性布局，从现有的水稻资源及其近缘野生种中鉴定受驯化的重要农艺性状靶标和功能基因，并研究其生理机理，有重要的学科前沿意义。有目的地发掘可以应用于新的育种体系的野生基因，解决水稻育种的瓶颈问题，增强水稻的高产、优质和高抗性状，或研发新型高效水稻品种类型，保证我国粮食作物持续改良

与粮食安全具有长远的影响，也有广阔的市场需求。

参 考 文 献

[1] Doebley J，Gaut B，Smith B. The molecular genetics of domestication. Cell，2006，127：1309-1321

[2] Wright SI，Bi IV，Schroeder SG，et al. The effects of artificial selection on the maize genome. Science，308：1310-1314

[3] Clark RM，Wagler TN，Quijada P，et al. A distant upstream enhancer at the maize domestication gene，*tb1*，has pleiotropic effects on plant and inflorescent architecture. Nat Genet，2006，38：594-597

[4] Frary A，Nesbitt TC，Grandillo S，et al. *fw2.2*：a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. Science，2000，289：85-88

[5] Li C，Zhou A，Sang T. Rice domestication by reducing shattering. Science，2006，311：1936-1939

[6] Wang H，Nussbaum-Wagler T，Li B，et al. The origin of the naked grains of maize. Nature，2005，436：714-719

[7] Jaenicke-Despres V，Buckler ES，Smith BD，et al. Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. Science，2003，302：1206-1208

[8] Wang RL，Stec A，Hey J，et al. The limits of selection during maize domestication. Nature，1999，398：236-239

[9] Konishi S，Izawa T，Lin SY，et al. An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication. Science，2006，312：1392-1396

[10] Wang ET，Wang JJ，Zhu XD，et al. Control of grain-filling and yield by a gene with a potential signature of rice domestication. Nat Genet，2008，40：1370-1374

[11] Tan LB，Li XR，Liu FX，et al. Control of a key transition from prostate to erect growth in rice domestication. Nat Genet，2008，40：1360-1364

[12] Jin J，Huang W，Gao JP，et al. Genetic control of rice plant architecture under domestication. Nat Genet，2008，40：1365-1369

[13] Chen KY，Cong B，Wing R，et al. Changes in regulation of a transcription factor lead to autogamy in cultivated tomatoes. Science，2007，318：643-645

撰稿人：何祖华

中国科学院上海生命科学研究院

审稿人：卢从明　李颖章

多倍化在植物物种形成中的作用是什么？

What Is the Role of Polyploidization in Plant Speciation?

多倍体（polyploid）是指体细胞中包含了三套或者更多套染色体组的个体。根据体细胞中染色体组的数目，多倍体又可被分为三倍体（$3n$；n 代表染色体组）、四倍体（$4n$）、六倍体（$6n$）和八倍体（$8n$）等。产生多倍体的过程即为多倍化（polyploidization）。多倍体在产生之后，一般还要经历一个二倍化（diploidization）的过程。在这个过程中，染色体片段会发生不同程度的重组、丢失、易位和倒位等结构变化，使得原来的多倍体在有丝分裂和减数分裂行为上接近或者等同于普通的二倍体。经历了二倍化过程的多倍体也被称为古多倍体。在以前的研究中，人们关注得比较多的是新近形成的多倍体，认为 70％的被子植物和 90％的蕨类植物为多倍体。现在看来，这个数字还是被低估了的，因为许多看起来是二倍体的植物实际上是古多倍体[1]。最新的研究结果表明，植物在演化中经历了不止一次的基因组加倍事件，其中有一次还发生在被子植物起源之前[2]。因此，从这个角度上说，现存的所有被子植物都是多倍体，或者至少曾经是。多倍化在植物的演化过程中扮演了非常重要的角色。

多倍体可以发生在种内，形成同源多倍体（autopolyploid），也可以发生在种间，形成异源多倍体（allopolypolid）。在同源多倍体中，最为常见的是同源四倍体（如马铃薯）和同源三倍体（如香蕉）。而在异源多倍体中，异源四倍体占绝大多数。与相应的二倍体相比，尽管多倍体一般比较粗壮，但却很少导致整个植株的巨型化。在多倍体中，虽然细胞的体积会比较大，但由于细胞分离的速率有所降低，细胞的数目并不比相应的二倍体多。多倍体所表现出的较强的生存能力和适应能力，使其在农业生产和遗传育种中具有非常重要的地位。更为重要的是，许多在进化中比较成功的类群（如被子植物和核心真双子叶植物，以及十字花科、茄科和禾本科等）在演化的早期阶段似乎都经历过一个多倍化的过程[3]，表明多倍化对于植物系统发育大格局的形成有重要的推动作用。

多倍体的产生有两种主要途径。比较常见的是由于同源染色体未能在减数分裂中分离而产生了二倍体（而非单倍体）的配子；这样的配子与正常的单倍体配子杂交就能形成三倍体的合子，与同样是二倍体的配子杂交则能形成四倍体的合子。大多数同源多倍体（如三倍体西瓜）都是以这种方式产生的。多倍体形成的第二个途径是在正常的有性生殖之后发生了染色体数目的倍增。例如，当两个物种进行杂交时，所产生的二倍体后代虽然有时也能存活，但往往并不能产生可育的配子；但如

果这些不育的后代可以进行无性繁殖，那么就有可能在植物体某些区域的体细胞中产生染色体数目的加倍。如果这个染色体数目的加倍事件发生在芽的顶端分生组织中，则整个芽就会变为四倍体；这些四倍体也因此会具有产生可育配子和可育后代的潜力了。这种多倍化事件虽然比较罕见，但已经在许多物种（如大米草属植物）中得到了证实。

多倍化的直接后果是新物种的产生。多倍体一旦产生，就与原来的二倍体在生殖上隔离了，成为一个崭新的物种。因此，通过多倍化产生新物种的过程既是同域物种形成，也是爆发式物种形成[4]。在植物中，最经典的当数栽培小麦（*Triticum vulgaris*）的起源[5]。大约 6000 年前，一种二倍体野生小麦（即一粒小麦 *T. monococcum*；$2n = 14$）与一种杂草（即野生山羊草 *T. speltoides*；$2n = 14$）发生了杂交，产生了同样具有 14 条染色体的杂交后代。由于来自两个亲本的染色体在减数分裂中不能正常配对，这个杂交后代是不育的。但是，由于低温，这个杂交后代又经历了一个偶然的染色体加倍事件，形成了一个异源四倍体（即二粒小麦 *T. dicoccoides*；$2n= 28$）。后来，二粒小麦又与另一种植物（即节节麦 *T. tauschii*；$2n=14$）杂交，形成了一个具有 21 条染色体的不育的杂交后代。同样，由于低温，这个杂交后代的染色体又得到了加倍，形成了一个具有 42 条染色体的异源多倍体；此即现在广泛栽培的六倍体小麦。

杂交和多倍化事件在植物中的频繁发生使得植物类群之间的进化历史趋于复杂，形成一个网状结构（而非传统意义上的树状结构）[6]。因此，深入细致探讨类群间的系统发育关系是人类认识、理解和利用植物的基础，也是一个充满挑战性的科学命题。

到目前为止，对绝大多数多倍化事件的认识还是非常肤浅的，既不知道其发生的时间和地点，也不知道其发生的动因和过程，有时甚至连某个多倍体是同源多倍体还是异源多倍体都区分不清。为此，人们一直在尝试利用多种不同的方法和手段，来认识和确定某些重要多倍体的来源及其进化规律。传统的细胞遗传学的方法虽然稍显简单和粗略，但速度比较快，可靠性也比较高，对于认识新多倍体的起源来说仍然是不可或缺的一步。在此基础上发展起来的基因组原位杂交技术，由于能够更准确地确定多倍体的亲本来源，已经成为目前多倍体起源研究中最为常用的方法并已经成功地应用到稻属、棉属、大豆属和芍药属等网状进化比较明显的类群中，取得了令人信服的证据。随着越来越多物种的基因组测序工作的完成，对多倍体起源问题的研究将会上升到基因组层面。

关于多倍体起源和演化的另一个难点是多倍体的二倍化问题。由于在遗传上不够稳定，多倍体基因组一般都要经历一个复杂的二倍化过程。这个过程，既表现为染色体的重组、丢失、易位和倒位等结构变化，又表现为基因的丢失和功能分化等多个方面。从进化的角度看，多倍体在二倍化过程中会在基因组结构上产生出各种

各样的组合和变化，使得新性状和新类群的产生成为可能[7]；这也正是多倍化往往会导致大类群起源和适应性辐射现象产生的原因。但是，到目前为止，人们对这个过程的认识还处在初级阶段。例如，在染色体和基因组中发生结构变化的原因是什么？有什么样的规律？重组、丢失、易位和倒位等结构变化中有多少是随机的？是否也有必然的成分在内？同样，重复基因的命运问题也是多倍体研究中备受关注的焦点[8]。重复基因是如何分化的？为什么有的重复基因能够在二倍化后的基因组中保留下来，而有的走向了灭亡？在保留下来的基因中，哪些维持了原有的功能？哪些又获得了新功能？重复基因是否以及如何改变了原来的发育途径和调控网络？这些改变是否以及如何导致了新的生理、生化和形态性状的产生？自然选择对这些变化究竟产生了什么样的影响？等等。所有这些，都有待于进一步的研究。

参 考 文 献

［1］ Adams KL，Wendel JF. Polyploidy and genome evolution in plants. Curr Opin Plant Biol，2005，8：135-141

［2］ Fawcett JA，Maerea S，Van de Peer Y. Plants with double genomes might have had a better chance to survive the *Cretaceous-Tertiary* extinction event. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106：5737-5742

［3］ Van de Peer Y，Maere S，Meyer A. The evolutionary significance of ancient genome duplications. Nat Rev Genet，2009，10：725-732

［4］ Coyne JA，Orr HA. Speciation. Sunderland：Sinauer Associates，Inc，2004

［5］ Simpson MG. Plant Systematics. Elsevier Academic Press，2006

［6］ Soltis PS，Soltis DE. The role of hybridization in plant speciation. Annu Rev Plant Biol，2009，60：561-588

［7］ Doyle JJ，Flagel LE，Paterson AH，et al. Evolutionary genetics of genome merger and doubling in plants. Annu Rev Genet，2008，42：443-461

［8］ Semon M，Wolfe KH. Consequences of genome duplication. Curr Opin Genet Dev，2007，17：505-512

撰稿人：孔宏智

中国科学院植物研究所

审稿人：杨维才　薛红卫

植物激素作用的分子机理是什么?

Molecular Mechanism of Hormone Action in Plants

植物激素是植物体内合成的一系列微量有机物质。激素可以由产生部位运输到其他部位，在极低浓度下引发生理反应，在植物众多生命活动过程中（如从种子休眠、萌发、营养生长、生殖、成熟和衰老等）发挥重要作用。此外，激素还是植物感受外部环境条件变化，调节自身生长状态来抵御不良环境、维持生存所必不可少的信号分子。除了生长素、赤霉素、细胞分裂素、脱落酸和乙烯五种经典的植物激素外[1]，油菜素甾醇类、茉莉酸、水杨酸和独脚金内酯等也被列入植物激素的名单中。以激素为主题的研究几乎涉及植物学研究的各个领域，对激素作用机制的研究将是了解纷繁神秘的植物生命现象的重要途径，也是农作物产量和品质调控以及育种创新的重要理论源头。

自 1928 年发现生长素以来，人们对植物激素及其生理功能的认识逐步深化，在植物激素的化学结构鉴定、生物合成的酶学过程和生理水平上的生物学效应等方面获得了大量的知识，对激素调控植物开花、生长、分化、发育、成熟和衰老以及植物对环境的适应性上有了较为深入的认识。20 世纪 80 年代后期，随着分子遗传学的发展及相关方法体系的建立和应用，植物激素研究进入一个“筛选获得激素相关突变体并分离相关基因”的发展快车道。近年来，随着植物分子生物学和基因组学的飞速发展，特别是以拟南芥和水稻为代表的模式植物基因组研究的重大突破以及带来的便利平台条件，使本身就处于科学前沿的植物激素研究进入了快速发展阶段。

激素通过调控植物的生长与发育而影响植物（农作物）的产量、品质和抗性。20 世纪中期，人口的快速增长给全世界的粮食安全带来了非常严峻的挑战，而作物育种中遇到的“高产和倒伏的矛盾”制约着水稻、小麦等主要农作物产量的进一步提高。以 Nonnan Borlaug 博士为代表的育种家，把来自小麦品种“Norin 10”的半矮秆基因 *RHT* 运用到小麦育种中，培育了一系列高产抗倒伏的小麦品种。与此同时，中国台湾和国际水稻研究所的育种家，利用起源于我国的水稻农家品种“Dee-geo-woo-gen”携带的半矮秆基因 *SD1*，育成了一系列高产抗倒伏的水稻品种。植株高度大大降低的小麦、水稻半矮秆新品种，因表现出抗倒伏能力强、产量潜力大和对化肥反应敏感等显著特点，迅速在世界范围内得到了大面积的推广应用，使得世界粮食总产在短时间内大幅度提高，从而在全世界范围内解决了当时由于人口快速增长所带来的粮食安全严峻危机，这一历程即为众所周知的“绿色革

命”。经过了 40 多年的探索和研究，人们逐渐从分子水平上认识到，为“绿色革命”做出重要贡献的原来是植物激素赤霉素合成与信号转导的相关基因，即水稻的 *SD 1* 和小麦的 *RHT 1* 基因。这两个基因的功能变化有效地调控了水稻和小麦的生长发育状况（半矮秆），提高了新品种的抗倒伏能力和同化代谢能力，这是“绿色革命”成功的关键所在[2,3]。在人类历史上，没有任何其他单个基因对粮食生产、对全人类的发展做出过如此巨大的贡献！总结第一次“绿色革命”成功的经验，一个普遍的共识就是要使作物产量再次大幅度提高，必须对产量赖以形成的植物总体的生长发育状况进行重大调控；同样是来自第一次“绿色革命”的启示，对植物生长发育和产量形成息息相关的植物激素无疑是首先应当瞄准的突破口。

尽管已经在激素化学本质的鉴定、激素生物合成的酶学过程、激素的生物学效应等方面取得了大量的知识积累，并通过分子遗传学和生物化学的思路和方法对植物激素识别及信号转导的研究获得了很多进展，目前对植物激素作用机理的认识还十分有限，对一些重要的科学问题还很不全面和深入。目前对植物激素合成、降解、修饰、转运、激素信号感知及传递的分子基础等方面认识仍然是片面的和零碎的，对激素发挥其生物学效应的分子机制的认识更是刚刚起步[4]。对激素合成的调控机制尚不清楚；激素在体内广泛存在各种形式的共价修饰过程，但对其发生的分子基础、生物学意义和调控机理却不甚了解；激素通常在一个部位合成，然后运输到另一部位起作用，但目前对激素运输机制的研究仅仅是在生长素上取得了一些进展。此外，植物如何感受激素（即激素受体的鉴定）？受体识别激素后如何实现信号的级联放大和接力传递？信号转导导致哪些功能基因的表达发生变化？其生物学功能如何？哪些代谢途径参与了激素最终生物学效应的体现？

随着研究的深入，人们开始认识到单纯研究某一个激素的合成、信号转导以及所引起的下游基因的表达对阐明其诱导的生物学效应是远远不够的。各种植物激素之间存在复杂的相互作用，激素信号转导途径彼此形成错综复杂的网络系统，而当前对激素互作网络的研究还没有真正从系统生物学意义上开始[4]。探讨和研究这些问题对于人们从根本上认识激素调控植物生长发育及对环境适应性的分子遗传机制具有不可或缺的科学意义。同时，对植物激素信号转导机制的深入认识将有可能揭示由化学物质介导的生物体内信号转导事件的基本规律。

我国科学家近年来在植物激素代谢调控、转运、信号转导等领域取得了重要进展，特别是激素受体基因分离鉴定、激素调控株型以及激素间相互作用机理等方面取得了突破性进展。当前，我国农业面临的形势是主要农作物单产水平在一个比较高的基数上长期徘徊不前，而人口持续增长、土地资源严重匮乏和农业生态环境不断恶化，这又一次使粮食问题成为我们必须面对的严峻挑战，也由此决定了必须在现有基础上再次大幅度提高主要粮食作物单位面积的产量。如果说第一次“绿色革命”对赤霉素效应的利用是不自觉的，那么在分子生物学和植物基因组学迅速发展

的今天，加强对植物激素的基础研究，主动地探索激素在植物生长发育特别是产量形成中的调控作用，有没有可能使作物产量再次实现大的突破呢？最近一系列高水平的研究表明，通过调控细胞分裂素、油菜素内酯、生长素的代谢可以显著改良作物的株型结构和产量构成，从而在现有水平上再次大幅度提高产量。总结“绿色革命”成功的经验，纵观国内外最新的研究进展，使我们认识到基于激素功能的品种设计是未来农作物产量、品质和抗性改良的重要途径，开展植物激素作用机制的基础研究具有巨大的潜在应用价值。

参 考 文 献

[1] Kende H，Zeevaart JAD. The five “classical” plant hormones. Plant Cell，1997，9：197-221
[2] Salamini F. Hormones and the green revolution. Science，2003，302：81-84
[3] Khush GS. Green revolution：the way forward. Nat Rev Genet，2001 2：815-822
[4] Davies PJ，Plant Hormones：Biosynthesis，Signal Transduction，Action! Dordrecht，The Netherlands：Kluwer Academic Publishers，2004

撰稿人： 李传友
中国科学院遗传与发育生物学研究所
审稿人： 杨维才　薛红卫

作物杂种优势遗传的分子基础是什么？

What are Genetic and Molecular Bases of Plant Heterosis?

杂种优势（heterosis 或 hybrid vigor）是指杂交一代在生物产量、发育速度、繁殖力或抗逆性等性状上表现出优于双亲的平均值或者最佳亲本的现象。这种现象在生物界普遍存在。据记载中国早在 2400～2500 年前的春秋战国时代用母马和公驴交配而获得体力均超双亲的杂种——骡，被认为是人类历史上利用杂种优势的先例。植物中最早描述杂种优势的记录可追溯到 1776 年，德国学者克尔罗伊特（Kolreuter）记录了烟草、石竹等植物的种间杂交优势。但是，首次提出杂种优势概念的人是遗传学之父孟德尔。他在 1866 年发表的《植物杂交试验》中描述了豌豆杂交一代（F1）的植株高度比两个亲本都要高的结果。后来，达尔文通过控制植物授粉方法，分析了许多植物自交和杂交的后代，发现杂交对植物有益而自交对植物有害的结果，说明杂种优势在植物进化过程中也起着重要作用。其实，具有杂种优势的杂交子代自交后一般都表现出衰退现象。此外，某些生物杂种的生存能力反而比亲本减退，称之为杂种劣势。

杂种优势的应用极大地推动了农业生产的发展，显著提高了农产品的产量（一般比常规品种可增产 20％以上），为满足全球日益增长的粮食需求起着不可或缺的作用。玉米是农作物中杂种优势利用最早的一个作物，因为它是一个雌雄同株异花植物，为高效制备杂交种子创造了便利条件。自 1920 年美国率先培育出第一个用于生产的玉米杂交品种，目前杂交玉米品种栽培面积在美国占其总面积的 95％，在全球占 65％。杂交玉米在生产上的成功应用极大地推动了其他作物杂种优势利用研究。由于许多粮食作物是自花授粉的，生产杂种所需要的关键技术和方法与玉米这样的异花授粉作物明显不同。我国以袁隆平为代表的水稻育种专家于 1973 年利用“三系”（即不育系、恢复系、保持系）配套技术成功获得杂交水稻种子，成为水稻育种史上的一个里程碑。虽然杂种优势目前已在许多农作物如高粱、棉花、向日葵、油菜以及蔬菜中得到了广泛应用，大幅度提高了作物的产量、品质与抗逆性，但是关于其形成的遗传和分子基础仍然很不清楚。关于杂种优势产生的遗传基础已讨论了一个多世纪[1-3]，形成了显性和超显性两种主流假说。显性假说于 1910 年由布鲁斯（Bruce）[2]提出，认为显性基因有利于个体的生长和发育，而隐性基因则相反。杂种优势的产生是因为双亲中有益的显性基因在 F1 个体中表达消除了各自等位隐性基因引起的不利影响，F1 个体中显性基因越多，杂种优势越显著。在过去的一个世纪中，很多人认同显性假说，但也遭到了不少的质疑[4]。最尖锐的问

题是如果这一假说成立的话，人们能否获得一个将所有的显性基因聚合到一起、不再具有杂种优势的纯系呢。这个问题遭到了显性假说的反驳，因为显性基因可以和一些隐性基因紧密连锁，故不可能获得聚合所有显性基因的纯系。然而越来越多的研究表明简单的显性聚合可能不是产生杂种优势的主要遗传基础。超显性假说是沙尔（Shull）于 1911 年提出的，认为杂种优势来源于亲本双方有差异的等位基因相互作用，使 F1 的生长发育超越纯合的亲本，强调异质性是杂种优势产生的主要原因。这一假说已获得一些分子生物学数据的支持，特别是一些等位的调控因子在杂种中的相互作用导致许多基因表达水平的变化。由于复杂性状常受到众多基因的调控，数量遗传学分析显示杂种优势的形成是通过各种（包括显性、超显性、加性与非加性以及上位性等）遗传效应综合作用的结果[5]。近年来，随着生物信息学、分子生物学和各种组学的快速发展，人们逐渐开始从全基因组和多层次水平上来解析杂种优势产生的分子机理[6]。

研究显示基因表达变化可能是引起杂种优势的根本原因。但是，目前还不知道植物中是否存在着一类特定的控制杂种优势的基因，如果有的话，它们的作用机理又是什么。通过比较亲本和杂种一代（F1）之间转录组水平的变化发现，F1 中的基因表达模式各种各样，既有显性、超显性和加性效应，也有低亲效应、超低亲效应乃至基因沉默等表达特征。在杂合子基因组中，大部分基因表达与亲本没有很大的差异。一些研究结果也发现参与细胞能量与物质代谢、细胞器再生和激素调控等途径的基因表达与杂种优势密切相关。这些基因表达水平的上调有利于强化植物抗逆和光合作用等重要生理过程。同时也发现了一些协同调控 F1 中基因表达的转录因子和染色质修饰以及小分子 RNA 途径相关的蛋白质[7]。但是，这些调控因子在杂种优势形成过程中的功能有待进一步的确认。最近的研究指出杂种优势的产生可能得益于高等生物中存在的生物钟调控机制，杂种一代可以通过表观遗传修饰来增强生物钟的波动幅度，从而实现对下游基因表达的协同调控，为阐明杂种优势产生的分子机理提供了新思路[8]。总体来说，关于杂种优势产生的分子基础研究才刚刚起步，在今后的研究中需要运用多种研究手段、结合深度的表型分析、从不同层次上解析杂种优势产生的遗传和分子基础，最终为实现杂种优势的人工调控铺平道路。

参考文献

［1］ Shull GH. The composition of a field of maize. Am Breeders Assoc Rep，1908，4：296-301

［2］ Bruce AB. The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. Science，1910，32：627-628

［3］ Jones DF. Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. Genetics，1917，2：466-479

［4］ East EM. Heterosis. Genetics，1936，21：375-397
［5］ Crow JF. Alternative hypothesis of hybrid vigor. Genetics，1948，33：477-487
［6］ Birchler JA，Auger DL，Riddle N C. In search of the molecular basis of heterosis. Plant Cell，2003，15：2236-2239
［7］ Chen ZJ. Genetic and epigenetic mechanisms for gene expression and phenotypic variation in plant polyploids. Annu Rev Plant Biol，2007，58：377-406
［8］ Ni Z，Kim E，Ha M，et al. Altered circadian rhythms regulate growth vigor in hybrids and allopolyploids. Nature，2009，457：327-331

撰稿人：黄继荣
中国科学院上海生命科学研究院
审稿人：杨维才　薛红卫

生物化学、生物物理学、分子生物学、计算生物学与生物信息学

DNA 为什么在一个细胞周期内只复制一次？

How Does DNA Know to Only Replicate Once Throughout A Cell Cycle?

染色体 DNA 复制在所有生物体的繁殖过程中处于一个中心位置。每一次细胞生长分裂，整个基因组 DNA 必须被准确地复制一次，以保证每一个子细胞得到一套完整的遗传物质。要完成这一非凡的事件，真核细胞已进化出一个极其复杂并且极其有效的细胞机器和一套极精密的调控系统。这个细胞机器和调控系统由超过 200 条多肽链组成。这些多肽链共同作用以保证：①DNA 复制合成只发生在细胞周期的 DNA 合成期，即 S 期；②每一个酵母或人体细胞分别有大约 400 个或 5 万个 DNA 复制源（DNA replication origin），它们在 S 期的不同时间里起始 DNA 合成，但每一个 DNA 复制源在整个 S 期只起始 DNA 合成一次，并且只有一次以确保染色体上的每一部分 DNA 得到复制一次。这样，细胞内遗传物质的完整性在每一次细胞分裂中就能被精确地维持。

那么，细胞是怎样调控每一个 DNA 复制源在每一次细胞分裂中只起始 DNA 合成一次的呢？在回答这个问题以前，我们首先来看一下真核细胞 DNA 复制起始的基本生化过程[1]。DNA 复制起始的第一步是 DNA 复制起始复合物（pre-replication complex，pre-RC）的形成。pre-RC 的形成是 DNA 复制起始的最重要一步。DNA 复制起始的主要调控也是在这一步。自 1973 年发现第一个复制起始蛋白 Cdc6 以来，MCM、ORC、Cdt1 在 2000 年前相继被发现。ORC 是由 6 个不同的多肽链组成的蛋白复合物。它的主要功能是识别 DNA 复制源，它自始至终结合在 DNA 复制源上。在细胞生长的 G_1 期，通过专一的蛋白质相互作用 ORC 吸引 Cdc6 和 Cdt1 蛋白结合到 DNA 复制源上。然后，Cdc6 和 Cdt1 蛋白共同作用把 MCM 结合到 DNA 复制源上以形成 DNA 复制起始复合物。最新的研究发现，pre-RC 的形成机理在不同的有机体内有差异。高等真核生物中，除了 Cdc6 和 Cdt1 蛋白，Mcm9 蛋白在 2008 年被证明是 MCM 结合到 DNA 复制源上必需的蛋白质。Cdt1 首先和 Mcm9 相互作用使得它结合到 DNA 复制源上。然后，Mcm9 和 Cdc6 把 MCM 结合到 DNA 复制源上。在裂殖酵母（*S. pombe*）中，Sap1 也是一个 DNA 复制起始必需的蛋白，直接参与 pre-RC 的形成。和 ORC 一样，它始终结合在 DNA 复制源上。在 G_1 期，它和 ORC 一起帮助 Cdc18 蛋白（裂殖酵母的 Cdc6 同源蛋白）结合到 DNA 复制源上。我们相信高等真核生物也存在 Sap1 的同源蛋白。高等真核生物中的 Sap1 同源蛋白正在被确定。除了上述这些蛋白质外，是否还有别的蛋白质

参与 pre-RC 的形成，目前还不清楚。进一步的体外生物化学研究将彻底阐明 pre-RC 的组装机理。

那么，细胞又是怎样调控 pre-RC 形成的呢？到目前为止，还没有确切的证据指出 DNA 复制起始在 ORC 水平上受到调节。在细胞生长分裂过程中，ORC 一直结合在 DNA 复制源上，ORC 在细胞内的量不随细胞周期的改变而改变。在 pre-RC 的激活过程中，虽然 ORC 的一些亚基被磷酸化，但磷酸化的 ORC 是否就使其失去与 Cdc6、Cdt1 的相互作用还没有确切的实验证据。与 ORC 不同，Cdc6 和 Cdt1 在酵母细胞里出现的时间是被严格控制的。它们在晚 M 期和早 G_1 期开始被表达。在 G_1 期细胞，它们的量达到最高点。ORC、Cdc6 和 Cdt1 的分子数大致和 DNA 复制源的数目一致。在 G_1 期，虽然 ORC、Cdc6 和 Cdt1 的量能使每一个 DNA 复制源装配一个 pre-RC，但没有多余的蛋白质使得在一个细胞周期内在同一个 DNA 复制源第二次装配 pre-RC。一旦先前的 pre-RC 被磷酸化激活，它的一些成分就会被降解。在 G_1-S 期的转折期，pre-RC 被 CDK 和 Cdc7-Dbf4 蛋白激酶激活。pre-RC 被激活后，其他 DNA 复制起始蛋白如 Cdc45、RPA、DNA polymerase α/primase、DNA 聚合酶 δ、DNA 聚合酶 ε 等结合到 DNA 复制源上以形成 pre-initiation complex（pre-IC）。最终双股 DNA 链被打开并起始 DNA 合成。pre-RC 被激活后，Cdc6 和 Cdt1 蛋白被磷酸化。在酵母细胞中，磷酸化的 Cdc6 和 Cdt1 蛋白很快被降解以防止它们在 S 期重新参与 pre-RC 的形成。在人细胞里，磷酸化的 Cdc6 离开细胞核进入到细胞质里，使得 Cdc6 不能再在细胞核里用于组装 pre-RC。MCM 的 Mcm2 和 Mcm4 成员也在 pre-RC 激活过程中被磷酸化。在出芽酵母中，磷酸化的 MCM 被转运出细胞核。在裂殖酵母和人细胞中，磷酸化的 MCM 虽然依然待在细胞核里，但它不能和 DNA 结合组装 pre-RC。在这里，CDK 被用来激活 pre-RC 起始 DNA 合成。同时，CDK 磷酸化 pre-RC 的组装蛋白质使得它们被降解或丧失生化功能，使 pre-RC 在一个细胞生长分裂周期内不能被第二次组装。这样，每一个 DNA 复制源在一个细胞周期内只起始 DNA 合成一次。

除了 CDK 调节 pre-RC 形成外，在高等真核生物中 Geminin 也抑制 pre-RC 的形成。Geminin 出现在细胞的 S、G_2 和 M 期早期。在 M 期晚期，它通过 APC 途径被降解。Geminin 通过结合到 Cdt1 蛋白从而使它丧失其和 MCM 相互作用，并导致 MCM 不能结合到 DNA 复制源上。这样，细胞就不能在 S、G_2 和 M 期早期再形成 pre-RC，以防止在一个细胞周期内在同一个 DNA 复制源上第二次起始 DNA 合成。在 M 期晚期，Geminin 通过 APC 途径被降解使得 Cdt1 能重新行使它的生物功能。这样，在细胞的 G_1 期 pre-RC 就能在 DNA 复制源上得到正常装配。

从上面可以明显地看到，细胞用多途径控制 DNA 在一个细胞周期内重复

复制。那么，为什么细胞要如此严格地控制 DNA 重复复制呢？答案是 DNA 重复复制会给细胞造成灾难性的后果，如基因组的极不稳定。多途径控制 DNA 重复复制，这就排除了由于单一途径突变而引起 DNA 重复复制的可能性。任一 DNA 复制源的重复起始可能使得大到 20 万个碱基的 DNA 重复复制。多途径多层次的控制使得在一个细胞周期内 DNA 重复复制的可能性降到最低。

除了严格调控 DNA 重复复制外，真核细胞还进化出另一套调控系统以保证染色体上的每一个 DNA 片段都能被准确地复制一次。这个系统叫细胞周期检验点（checkpoint）。细胞周期检验点是一种全局性的调控系统，它调节细胞按照 G_1、S、G_2、M 期按序启动、进行并精确地完成[2-6]。当 DNA 受到损伤或 DNA 复制叉遇到变异的碱基或其他原因而停顿时，细胞会产生应激反应并激活检验点。激活的检验点一方面稳定停顿的 DNA 复制叉并防止复制叉倒转；另一方面它很快启动 DNA 损伤修复系统，并同时抑制细胞周期运转以提供足够的时间以修复损伤的 DNA。等到 DNA 损伤被修复后，DNA 复制再继续进行直至完成。所以，真核细胞既有极其严格的多层次调控途径控制细胞在一个细胞周期内仅复制 DNA 一次，也有检验点调控系统保证染色体 DNA 被精确地复制一次以维持遗传物质的稳定性。

在过去 20 年中，对真核细胞 DNA 复制及检验点机理的研究已有重大进展，但是，许多重大核心问题仍等待解决。例如，真核细胞 DNA 复制起始及其调控的生化机理是怎样的？DNA 复制叉又是怎样在充满蛋白质的染色质 DNA 上移动的？复制叉内的蛋白质是怎样合成 DNA 的？检验点是怎样被激活的？检验点通路的信号是怎样被传递的？每一条检验点通路上的靶蛋白是什么？目前，全世界数以万计的科学工作者正在夜以继日地研究这些问题。

参 考 文 献

[1] Bell S P, Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. Annu. Rev. Biochem., 2002, 71: 333-374

[2] Osborn A J, Elledge S J, Zou L. Checking on the fork: the DNA-replication stress-response pathway. Trends in Cell Biology, 2002, 12: 509-516

[3] Putnam C D, Hayes T K, Kolodner R D. Specific pathways prevent duplication-mediated genome rearrangements. Nature, 2009, 460: 984-989

[4] Mimitou E P, Symington L S. Sae2, Exo1 and Sgs1 collaborate in DNA double-strand break processing. Nature, 2008, 455: 770-774

[5] Paulsen R D, Cimprich K A. The ATR pathway: fine-tuning the fork. DNA Repair, 2007, 6: 953-966

[6] Sogo J M，Lopes M，Foiani M. Fork reversal and ssDNA accumulation at stalled replication forks owing to checkpoint defects. Science，2002，297：599-602

撰稿人： 孔道春

北京大学

审稿人： 朱玉贤　楼慧强

DNA 构象如何影响基因的表达？

How DNA Conformation Influences Gene Expression?

DNA（deoxyribonucleic acid）是脱氧核糖核酸分子的简称，它携带了以四种碱基作为字母排列而成的生命体的遗传蓝图，承载着个体遗传和发育的主要指令。DNA 上的遗传信息通过“中心法则”而表达：先“转录”到 RNA（ribonucleic acid）分子上，然后再指导 20 种氨基酸以特定序列连接并进而折叠组装成蛋白质分子，后者是生命活动的直接执行者。

自从 Watson 和 Crick[1] 于 1953 年发表 DNA 分子双螺旋结构模型以来，人们对遗传信息的储存、复制和表达的机制有了长足的认识。同时人们也观察到了多种 DNA 空间结构的其他形式，这样的不同结构被认为与携带于 DNA 分子上的基因的表达及其调控息息相关。

除了 Watson 和 Crick 提出的 B-DNA 双螺旋之外，还发现 DNA 存在其他类型的构象（共价结构相同，只是因为非共价结构的不同而产生的不同结构形式），如 Z-DNA 和 A-DNA 等。同一段 DNA 序列，当其处于这些不同的构象状态时，其直径和长度都不同。在生物系统中，大部分 DNA 被认为是以右手螺旋的B-DNA形式存在，而与此不同的构象被认为会影响基因的表达，进而改变细胞的功能。在极少数情况下，DNA 会以左手螺旋的 Z-DNA 形式呈现。部分非 B 形式的 DNA 构象被发现与疾病相关，比如类淀粉样前体蛋白编码基因的启动子序列以 Z 型构象存在，是导致老年痴呆症的重要产生原因之一[2]。可以想象，生物体内 Z-DNA 构象的出现会直接影响细胞核内的染色质上核小体的排列，进而排斥原来那些结合 B-DNA 的蛋白质，因而影响相关基因的表达。我们目前对 Z-DNA 参与基因表达调控的机理以及其所介导的生理、病理学过程所知甚少，Z-DNA 是否结合特殊的蛋白质或其他细胞成分，能否导致 DNA 发生某种化学修饰（如甲基化修饰），B-DNA 和 Z-DNA 两种构象在机体内是否处于动态平衡等，都是有待回答的问题。A 型构象通常发现于当 DNA 处于转录状态时的 DNA 与 RNA 链形成的杂交双链中[3]。DNA 构象的动态性和多态性可能对基因表达具有重要影响，对这一问题的深入研究意义重大。

在 DNA 分子中，一些特异的碱基序列能够形成其他形式的特异构象。例如，具有反向重复性质的“回文碱基序列”有可能形成“发夹结构”，成为调节蛋白或者转录终止信号的识别位点；又如富含 A/T 序列的 DNA 区域由于解链温度较低，常常成为 DNA 复制和基因转录起始的区域。

双螺旋 DNA 的进一步扭曲盘绕则形成超螺旋，这种更复杂的三级结构发现于病毒、原核及真核生物的 DNA 中。在真核细胞的细胞核内，基因组 DNA 在各种组蛋白与其他相关蛋白的作用下经过有序而复杂的多重盘绕最终形成显微镜下能够观察到的染色质。染色质结构是高度有序而动态的，这种性质赋予真核基因表达与 DNA 高级结构变化之间的必然联系。DNA 结构的变化是真核基因转录的先决条件，这一过程需要通过染色质重塑（chromatin remodeling)，也就是染色质特定区域中 DNA 构象的改变来实现。染色质重塑影响基因表达主要有以下两种方式：①组蛋白的修饰。DNA 双螺旋主要通过缠绕组蛋白的方式形成核小体，这些与 DNA 结合的组蛋白的氨基酸序列和空间结构在不同的细胞中虽然类似，但它们可能发生了不同的共价化学修饰，如乙酰化、磷酸化、甲基化和泛素化等，这些修饰影响了组蛋白和染色质结合蛋白的相互作用，改变了它们相互作用的 DNA 序列和外界蛋白因子接触的难易程度，导致其所携带基因的表达活性的改变。这在一定程度上改变了生物的生理表型，是表观遗传学研究的重要内容。②DNA 在 CpG 位点的甲基化修饰。DNA 的甲基化修饰使得这些序列与相关蛋白的相互作用发生改变，后果常常是基因的表达被沉默了[4]。

虽然染色体 DNA 序列是生物遗传性质的终极决定者，但遗传信息的传递、表达和调控却并非一个简单过程。人类基因组测序就获得了许多意想不到的发现，其中之一就是人类整个基因组中编码蛋白的基因数目大约有 35 000 个左右，只比果蝇多一倍而已，远少于人们之前根据其他结果所推测的数目[5]。这些有限数目的基因如何产生出千变万化的生物学功能，进而造成物种间表型的巨大差异，是一个还有待回答的科学问题。可以想象的是，除了 DNA 碱基序列中所蕴含的遗传信息之外，作为 DNA 高级结构的构象信息可能是决定基因表达被复杂调控的重要因素之一。另一个不容忽视的简单事实是，构成多细胞生物体的各组织和器官的细胞虽然拥有完全相同的基因组（即其 DNA 的碱基序列完全形同)，但是不同基因的表达情况在不同细胞中却千差万别，DNA 构象的差异也许是导致这种结果的关键因素之一。

近年的研究表明，DNA 分子上的基因表达完全能够在不改变碱基序列的情况下，因为组蛋白的修饰的不同而不同。表观遗传学提出的所谓“组蛋白密码”这一概念在一定程度上对达尔文进化论提出了新的挑战：这些 DNA 的组装蛋白质分子存在各种不同的共价修饰会导致染色质 DNA 的构象发生改变，这样导致的特定基因转录的启动或抑制模式是可以遗传到后代中的[6]。如果真的存在所谓的组蛋白密码子，这些密码是如何形成，又如何被阅读并转化为生物学功能的呢？组蛋白的不同化学修饰分别起什么作用？组蛋白编码的信息又是通过什么样的机制被识别和翻译的呢？这些特殊的遗传信息又是如何保存、传递和发挥作用的呢？

DNA 的多种不同构象主要通过晶体学研究推断而来，并没有生物活体内的直

接观测证据，也许未来超高分辨率的显微技术能够帮助我们更深入地了解这一领域。随着现代分子生物学的发展，我们对 DNA 构象和基因表达之间关系的认识，已经突破了许多传统观点和经典理论。是否有其他未发现的 DNA 构象变化及由此产生的更多的基因表达和调控机制呢？不断有新的染色质重塑复合体被发现，但是很多重塑机制仍然是未解之谜。近年被鉴定的众多存在于细胞中的小分子 RNA 是否也通过参与表观遗传修饰而参与基因表达的调控呢？有无数类似的问题等待我们去解答。深入研究 DNA 构象和基因表达的关系，将帮助我们正确理解生命活动的分子机制，以及生命的本质。

参 考 文 献

［1］ Watson J D，Crick F H. Molecular structure of nucleic acids：a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature，1953，171：737-738

［2］ Vasudevaraju P B，Garruto R M，Sambamurti K，et al. Role of DNA dynamics in Alzheimer's disease. Brain Res. Rev.，2008，58：136-148

［3］ Rich A. DNA comes in many forms. Gene，1993，135：99-109

［4］ Klose R J，Bird A P. Genomic DNA methylation：the mark and its mediators. Trends Biochem. Sci.，2006，31：89-97

［5］ Venter J C，Adams M D，Myers E W，et al. The sequence of the human genome. Science，2001，291：1304-1351

［6］ Jenuwein T，Allis C D. Translating the histone code. Science，2001，293：1074-1080

撰稿人：魏文胜　朱玉贤

北京大学

审稿人：昌增益

动植物体内的生物钟是怎样形成的?

How Is Biological Clock Formed in Plants and Animals?

为什么牵牛花总在清晨开放，而夜来香只在夜晚绽放？为什么候鸟在冬天迁徙到温暖的南方，春暖花开的时候又总准时飞回来？又是为什么，公鸡会在拂晓啼鸣，银汉鱼会准时出现在满月后一天的海滩上？生命如此奇妙，它们如何知晓什么时候涨潮，什么时候降温，什么时候该冬眠，什么时候该迁徙？事实上，像现代人类用钟表计时一样，大自然在所有生命体内设置了精密的生物钟。进化的力量产生了生物节律，只有那些具有使自己的活动与环境节律同步协调能力强的生物得以生存下来。

生物并非只能被动感受外界的自然节律，即使外界环境不提供任何包含时间信息的信号，生物体依然能表现出有节律的行为。早在 1729 年，法国天文学家 Jean Jacques d'Ortous de Mairan 就观察到含羞草在日间展开、夜晚闭合的生理规律。然而，直到 20 世纪 50 年代，美国科学家 Franz Halberg 发现鼠血中的白细胞具有近似昼夜节律，才创建了生物节律研究方法，并正式命名为时间生物学（chronobiology）。自然界存在着各种各样的生物节律（图 1），按照周期（period）长短具体分为：周期大于 28 小时的亚日节律（infradian rhythm），周期约为 24 小时的近日节律（circadian rhythm），以及周期小于 20 小时的超日节律（ultradian rhythm）。

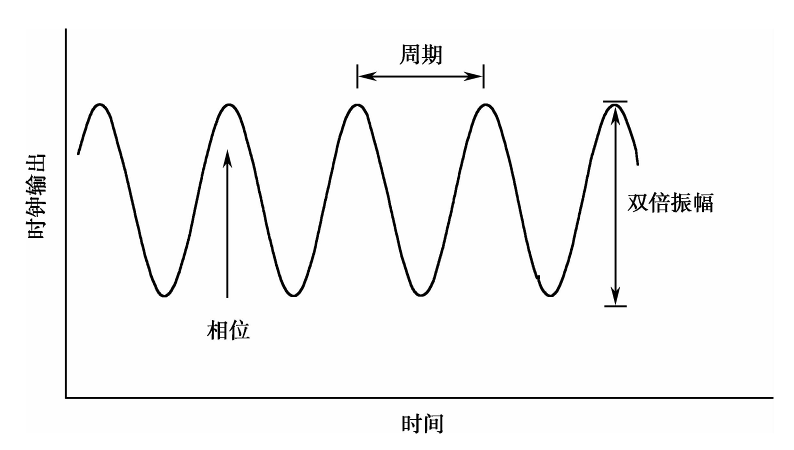


图 1　生物钟的节律

生物钟以单个细胞为单位自主发挥作用，产生周期效应的最小单位被称为“节

律器”。一个完整生物钟的节律器可按功能分为三部分：信息输入、核心节律器和信号输出（图 2）。核心节律器通过打开或关闭核心基因表达，使得输出的信号呈连续可变、不断循环的模式，最终使生物体的许多生理和行为表现出节律性。输入系统包括感受器和传入途径，负责接受外界环境中的周期信息（比如白昼的光暗变化、早晚的温度变化等）并传递给节律器，而输出系统则将节律信号通过传出途径送至效应器产生振荡信号。



图 2　生物钟节律器的组成

科学研究发现生物钟控制了生物体的多种生理行为，如人类及动物的睡眠和清醒周期、体内激素分泌、新陈代谢速率、体温等。长期以来，学术界主要用外界信号为主导的“外源说”、机体生命活动自主产生的“内源说”和生物体与环境相互作用的“综合说”三种观点来解释生物有机体获得生物钟的分子机制。“遗传”无疑是生物节律在长期进化选择过程中得以保留下来的最好方式。30 多亿年来，时间在我们的基因里留下了深深的烙印。藻类、植物、果蝇、小鼠、人类等物种中都存在能控制生物节律的基因，这些被称为时钟基因或核心节律基因的调控着生物体的节律活动。地球上的绝大多数生物适应了 24 小时的昼夜节律，似乎可以计算出精确的 24 小时时间周期。但事实上，精确的 24 小时节律依靠生物体这些大分子的自发行为是难以实现的。一般来说，生物钟自我维持的循环周期是大约 24 小时，而环境中的 24 小时昼夜节律对生物体的生物钟是不断调拨的，这样，外界经历了多少个昼夜交替，生物钟就可以完成多少个周期运行。

以植物的生物钟为例，植物的开花、叶片的运动等可以精确地感受环境变化，其中一种重要信号是日照长短的周期变化，也称光周期。我们知道在植物的生长过程中，植物细胞的光合作用将光能转化为化学能，储存于有机物中，不可忽略的是，光对植物来说也是一个重要的外界信号，光的周期变化对植物的发育具有重要的调控作用。光照的昼夜变化引起内源生物钟节律器震荡，将外界的信息变化准确地传到植物体内，从而引起不同植物在特定时间或季节开花，如牵牛花总在清晨开放，而夜来香只在夜晚绽放。科学家在实验室中用模式植物拟南芥作为材料，研究

植物体的生物钟问题。拟南芥生物钟的核心节律器主要由 *CCA*1（circadian clock-associated 1）、*LHY*（late elongated hypocotyl）和编码节律性表达基因 *TOC*1（timing of CAB Expression 1）三个核心节律基因组成。这三个元件形成一个反馈控制环调节昼夜节律中其他基因的表达，从而调控昼夜节律变化。这个核心节律器是这样实现的：清晨，*CCA*1 和 *LHY* 基因表达量最高，而 *TOC*1 水平受到抑制，而 *CCA*1 和 *LHY* 的表达需要 *TOC*1 维持，因而在白天它们的水平逐渐下降，到傍晚时达到最低；这时 *TOC*1 的抑制被解除，功能逐渐增强，反过来有促进 *CCA*1 和 *LHY* 基因的表达。拟南芥的光周期途径由光受体（如蓝光受体 CRYs 和红光/远红光受体 PHYs）感受光信号从而感知昼夜长短和光的强弱[1]。PHYs 通过 PIF 家族蛋白影响下游基因表达，也可以通过和泛素化降解途径中 COP1 蛋白的相互作用影响一些关键蛋白如 CO，CCA1 和 LHY 的蛋白积累。同样，CRY 受体也可以通过抑制 COP1 蛋白的功能影响到下游节律基因的功能。植物体整合来自光的信息对于实时调拨生物钟，维持这一系统的稳定是必需的。但是这个过程中所涉及的具体分子机理远没有上面提及的这么简单，更多更精细的调控机制需要更加系统和深入的研究。

对植物生物钟的研究有着重要的应用价值，例如，调节某些农作物的光周期反应有利于收割时间的改变；许多树种到冬天受短日照、降温的影响产生休眠芽。因此，只有深入了解生物钟的分子机制，才能解决这些问题，从而更好地利用和控制自然资源。

社会飞速发展，现代交通工具的便利总让人们有超越时间的错觉，出现“时差反应”。2006 年美国弗吉尼亚大学 Gene Block 教授实验组发现如果让老鼠长期处于昼夜颠倒、时差紊乱的生存状态，结果发现频繁倒时差导致老鼠容易死亡[2]。原来，动物的生物钟可分为中央生物钟（脑）和外周生物钟（肝脏、心脏、肾脏等其他器官），中央生物钟协调外周生物钟以维持身体不同组织的生理周期。人体外周生物钟会对中央生物钟的改变做出不同的反应，心脏紧跟中央生物钟的节律，从而保持同步的生理周期。然而，肝脏就迟钝的多，它需要几天的时间来适应中央生物钟的变化。这时候机体的生物钟不能和旅行目的地的时间同步，机体需要重新设定体内的生物钟，肝脏的生物钟则无法适应机体内中央生物钟的突然改变而产生不适反应。因此，揭示由“时差反应”、“夜间工作”或其他原因引起睡眠障碍的关键在于去发现那些负责沟通中央生物钟节律和其他器官节律的关键基因。

大自然奥妙无穷，漫长的进化过程造就了生物个体与大自然步调一致的生命刻度。生物体节律的紊乱会导致多种疾病，而外界刺激信号的波动甚至可能带来灾难。如果生存环境继续恶化，四季的界限越来越模糊，会不会有一天熊不再冬眠，大雁不再南飞？全球气候变幻莫测，冰川消融，海啸频发，又可能使许多“规律生活”的动植物面临灭顶之灾。生物钟不是仅由两个或三个基因产物组成的一个负反

馈控制环构成[3-5]，而是由许多还有待被发现的生物钟基因组成。现代生物学的飞速发展正逐渐使人们知晓生物钟是怎样一个精巧的时间装置，指引着地球上的生命有规律的生活。生物钟的研究存在许多未解之谜，还需要我们去探索发现。时间生物学作为一个发展迅速的领域仍然有着许多的空白需要填补，这是在新世纪人类在生物学研究中需要认识的一个重大问题。

参 考 文 献

［1］ Alabadí D，Oyama T，Yanovsky M J，et al. Reciprocal regulation between TOC1 and LHY/CCA1 within the *Arabidopsis* circadian clock. Science，2001，293：880-883

［2］ Davidson A J，Sellix M T，Daniel J，et al. Chronic jet-lag increases mortality in aged mice. Current Biology，2006，16：914-916

［3］ Dodd A N，Gardner M J，Hotta C T，et al. The *Arabidopsis* circadian clock incorporates a cADPR-based feedback loop. Science，2007，318：1789-1792

［4］ Gallego M，Virshup D M. Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock. Nature Reviews Molecular Cell Biology，2007，8：139-148

［5］ O′Neill J S，Maywood E S，Chesham J E，et al. cAMP-dependent signaling as a core component of the mammalian circadian pacemaker. Science，2008，320：949-953

撰稿人： 秦咏梅　郭红卫

北京大学

审稿人： 朱玉贤　林辰涛

复杂的人类转录组

Complex Human Transcriptome

基因作为遗传信息的模板，在 RNA 聚合酶的催化下转录生成转录物（transcript）。部分转录物进而被核糖体识别，翻译生成蛋白质。这样遗传信息完成了转录和翻译的过程。可见，转录在遗传信息传递中起着关键的中间桥梁作用。

随着技术的进展，我们认识到转录物不只是担当翻译模板的简单角色，其有着自身的复杂性：来源广泛、类型众多、结构复杂且功能多样。如果再考虑转录时空表达两个维度，转录组的复杂性远远超过我们现有认识。以往对转录本的研究主要集中于编码蛋白基因上，传统观念曾将基因组上除编码蛋白基因以外的、还未被发现有任何功能的 DNA 称为“垃圾 DNA”，主要包括基因间区、假基因、重复序列和内含子（intron）等。但是，近年来包括“DNA 元件百科全书计划”（ENCODE project）在内的多项研究发现，人类基因组广泛转录现象[1]。据估计，人基因组上20％的假基因有转录信号[2]，基因组上的重复序列也被转录[3]，人有 1/4 的微小 RNA（miRNA）源于编码蛋白基因内含子[4]。那些所谓的“垃圾 DNA”里可能蕴藏着宝藏！新的科学问题随之产生：这些大量的转录物有什么功能？是所有转录物都有功能，还是只有一部分有功能，而其他一些转录物只是转录“噪音”？为回答这些问题，我们需要在类型、功能和序列结构几个层次上对转录物进行研究。

首先，在类型上，活细胞的转录物不仅包含能翻译成蛋白质的 RNA（信使 RNA，mRNA），还包括不能翻译成蛋白质的 RNA——非编码 RNA。对非编码 RNA 的研究是国内外的热点之一，非编码 RNA 包括长非编码 RNA、微小 RNA（miRNA）、短干扰 RNA（siRNA）、转运 RNA（tRNA）等数十种不同类型[5]。新的非编码 RNA 类型还在不断被发现。

其次，转录物功能多样。mRNA 翻译为蛋白质，这是最为大家熟知的转录物功能之一。非编码 RNA 虽然不能翻译成蛋白质。但研究发现部分非编码 RNA，能与生物大分子，包括蛋白质、RNA 和基因组相互作用，在基因转录前、中、后多个过程起重要作用。例如，tRNA、核糖体 RNA（rRNA）等参与蛋白质翻译过程；小核 RNA（snRNA）、核仁小 RNA（snoRNA）等参与 RNA 剪接和 RNA 修饰。此外，转录程度异常可能会导致疾病发生。例如，正常细胞中，MALAT1 非编码 RNA 不转录；一旦转录，可能与非小细胞肺癌的转移有关[6]。阿尔茨海默病患者中 *BACE*1 基因组位点与正常人无异，但其反义基因异常转录后能结合并稳定 BACE1 的转录物，导致阿尔茨海默病发病的关键酶——BACE1 高表达，进而诱发

阿尔茨海默病[7]。目前已知功能的非编码 RNA 还只是所有非编码 RNA 的一小部分，大部分非编码 RNA 的功能还未知，还是等待被挖掘的科学宝藏。其中最具有挑战性的一个问题是，某些非编码 RNA 是否具有目前大家完全未知的一大类新功能？

最后，即使是来源于同一基因的 RNA，它们的转录物序列结构也可能不一样。选择性可变剪接体是转录物多样化的一种表现方式。剪接复合体（splicsome）切除内含子，以不同的方式组合同一基因中的外显子，从而在不同时间、不同细胞中拼接出不同的 RNA[8]。对于编码蛋白基因，这些 RNA 翻译成不同蛋白质，增加生理状况下系统的复杂性。非编码 RNA 也有选择性剪接现象。此外，转录后修饰也是导致转录物差异的方式之一，包括了 U 的插入和删除，C、A 和 G 的插入，C 被 U 取代或 U 被 C 取代，A 转变为 I 等。编辑后，转录物序列发生了不同于遗传信息的变化[9]。RNA 的再编码和 RNA 的化学修饰也都可以改变 RNA 的序列信息和折叠结构。

尽管转录组研究发现很多复杂现象并取得了很大的进展，但目前这方面的研究仍然面临着很多挑战。综合考虑上述复杂性，人类转录组的时空全貌究竟是如何呢？对这个问题的回答仍需要大量的高通量表达谱鉴定实验。

到目前为止，绝大部分转录物的功能和作用机制仍然是未知的。与持续以指数方式增长的转录组数据相比，转录组功能相关知识的增长却十分缓慢。一方面是海量的新数据；另一方面是我们对未知问题答案的渴求。生物信息学研究可以在一定程度上起到两者之间的桥梁作用，通过保守性或者结构模拟等生物信息学的手段结合传统的生物学实验对这些非编码 RNA 进行高通量功能预测。

再者，从疾病研究角度来看，新发现的非编码 RNA 与肿瘤等疾病的发生、发展的关系是否有足够的特异性，能够成为疾病的分子指标和治疗靶标？这些问题的解决，将为人类疾病的研究和治疗提供新的技术和思路。

最后，人类基因组中编码蛋白基因约占整个基因组序列的 2%。若仅按照生物体编码蛋白基因数目，则无法解释高等哺乳动物的复杂度。科学家们认为高等生物拓宽其分子水平差异并不完全取决于基因的数目，而主要依靠对基因表达的调控，也就是转录组的差异。那么，其他物种的基因组是否也有类似人的广泛转录现象？转录水平的差异能否解释人与其他物种之间的差异？

总之，对转录组复杂现象的研究仍然是一个令人着迷的科学难题。

参 考 文 献

[1] Birney E, Stamatoyannopoulos J A, Dutta A, et al. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. Nature, 2007, 447 (7146): 799-816

[2] Zheng D，Frankish A，Baertsch R，et al. Pseudogenes in the ENCODE regions：consensus annotation，analysis of transcription，and evolution. Genome Res，2007，17（6）：839-851
[3] Britten R J. Mobile elements inserted in the distant past have taken on important functions. Gene，1997，205（1-2）：177-182
[4] Li S C，Tang P，Lin W C. Intronic microRNA：discovery and biological implications. DNA Cell Biol，2007，26（4）：195-207
[5] Qi L，Li X，Zhang S，et al. Genetic regulation by non-coding RNAs. Sci China C Life Sci，2006，49（3）：201-217
[6] Ji P，Diederichs S，Wang W，et al. MALAT-1，a novel noncoding RNA，and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. Oncogene，2003，22（39）：8031-8041
[7] Faghihi M A，Modarresi F，Khalil A M，et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of beta-secretase. Nat Med，2008，14（7）：723-730
[8] Black D L. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing. Annu Rev Biochem，2003，72：291-336
[9] Skarda J，Amariglio N，Rechavi G. RNA editing in human cancer：review. APMIS，2009，117（8）：551-557

撰稿人：李炯棠　魏丽萍
北京大学
审稿人：朱玉贤

成瘾为什么常常难以彻底戒断？

Why Is Drug Addiction So Hard to Stop?

药物成瘾是一个全球性的严重问题。它可以简单定义为对成瘾性药物使用的失控：成瘾患者即便在知晓成瘾药物可能对自身造成严重危害的前提下，依然强迫性地试图获取和摄取药物[1]。一旦被毒品诱惑，就如同恶魔附身一般在劫难逃：因为毒瘾往往可以持续相当长的时间，甚至终身难戒。戒毒挑战着人类意志力的极限，即使在戒毒后，患者依然有很大的可能性发生复吸，而且这种可能性在当戒毒者接触到与吸毒有关的线索时急剧上升[1,2]。戒毒后的高复吸率一直以来是药物成瘾研究领域最难解释，同时也是最为有趣的问题。机体如何在药物刺激作用下永久性地维持并“记忆”这一非正常状态？如何系统地解释这一现象，关系着人们对这一病态行为，以及包含学习记忆在内的一系列高级脑行为的认识。

为解读毒瘾所表现出的强持久性，首先要回答的问题是：编码这种强持久性的物质基础是什么？在生物体中，DNA、RNA 和蛋白质这三类生物大分子的活性和数量均受到不同程度的精密调控。例如，发生在 DNA 层次的修饰可能会影响其转录生成 RNA 的效率，进而调控目标 RNA 的表达量；另一方面，某些基因的产物作为转录或翻译因子发挥作用，影响目标 RNA 或蛋白质的表达量，而发生在蛋白质分子上的某些修饰则会对被修饰蛋白的活性带来直接的影响。既然毒品的摄入可能在脑部神经网络、神经元显微结构、突触可塑性及信号转导通路等层次上引起了深刻的、可记忆性的变化，那么顺着这样的逻辑，寻找成瘾导致变化，并同时能将这种变化的信号维持下去的生物大分子，便成为相关研究领域的一个主攻方向。

首先，一些研究人员试图从表观遗传学的角度解释成瘾的长时程性。在基因的核苷酸序列不发生改变的情况下，其表达可能会受到可遗传的调控，这种现象被称为表观遗传调控。研究人员发现，成瘾性药物的刺激会造成转录因子 ΔFosB 的积累，进而通过抑制 *deacetylase 5* 基因的表达影响细胞的表观遗传学修饰[3]。此外，还有部分研究从表观遗传学的角度为解释成瘾行为的持久性提供了一些线索[4]。由于表观遗传学调控在成熟细胞中可以维持相当长的时间，在成瘾性药物的刺激下，某些特殊基因的差异表达被作为一种信息长期存储下来，编码处于特定状态的生物系统，进而表现出成瘾行为的长时程性。因此这类解释在逻辑上具有一定的合理性，但很多细节，尤其是与下游效应事件的联系还有待进一步阐明。

与 DNA 分子相比，大多数 RNA 和蛋白质在体内的降解周期都很短，不具备编码并存储长时程信息的潜力。然而，自然界总是存在一些特殊的例子。美国科学

家 Nestler 等发现，转录因子 ΔFosB 可以在成瘾性药物的刺激作用下增强表达，而由于这一分子的高稳定性，ΔFosB 逐渐在细胞内累计，进而使得因药物诱导产生的表达增强效应在体内维持数月甚至更长的时间。ΔFosB 是 Fos 转录因子家族的一员，它通过特异性地结合 Jun 家族成员，形成 AP1 转录因子复合体，参与很多下游基因的调控[1]。ΔFosB 是迄今为止发现的最稳定的蛋白之一[1]。目前已有大量的证据表明 ΔFosB 可能参与多种药物成瘾的形成与维持[5]，因此这一稳定的长效转录因子很有可能在长期维持成瘾状态中发挥重要作用。

另外，由于自然情况下的神经元是难以再生的，因此发生在神经元结构层次的改变也可能作为成瘾状态长时程存储的物质基础。目前已有研究表明，可卡因等成瘾性药物可能造成 NAc 脑区和 VTA 脑区神经元及其突触结构与形态的改变，这种改变可能会固定成瘾早期形成的可塑性改变，从而维持成瘾后非正常脑回路结构，进而作为一种物质基础使成瘾状态维持相当长的时间[6]。

最后，由生物网络中的正反馈环路构成的生物开关也有可能在药物成瘾的持久性中发挥重要作用。研究表明，一些不可逆的生物开关式事件往往是由正反馈机制控制的[7]，例如酵母的极化和受精卵的成熟等。最近的一项系统生物学研究通过系统地收集和整合药物成瘾领域在过去 30 年内发表的 1000 多篇高水平文献，鉴定出拥有 1000 余项独立研究证据支持的 396 个药物成瘾相关基因，并进一步构建了一个控制多种药物成瘾的假想共通分子网络。从这一分子网络中，研究人员鉴定出了四条正反馈环路，这些正反馈环路通过 *CAMKII* 基因耦连在一起，形成一个复杂的耦连正反馈环结构。通过系统模拟，研究人员发现这种网络拓扑结构所具有的系统特性与成瘾所表现出的一些行为是相吻合的[8]。目前已有研究表明，对 *CAMKII* 基因的激活在成瘾状态的形成与维持中发挥了重要的作用[9]；而对树突 CAMKII 翻译的阻断可以直接削弱突触可塑性的稳定过程，甚至影响到长时程记忆的加固与维持[10]。这些证据表明，这种以 *CAMKII* 为中心的耦连正反馈环结构可能对成瘾状态的形成与维持意义重大。这一假说从系统生物学的角度，为解释药物成瘾的持久性提供了新的线索。

总之，上述四个方面的研究从不同的角度对理解成瘾行为的持久性提供了线索，但研究集中在不同的层次上，对问题的诠释不够系统和深入。事实上，这几种机制很可能是内在统一的。总之，探索这种能够“记忆”成瘾所导致的状态变化，并将这种变化的信号长期维持下去的物质基础，还需要利用多学科优势，采用多种技术手段系统地设计研究策略，从系统生物学的层面上进行深入研究。对这一问题的系统诠释，不仅有助于人们深入地理解药物成瘾的生物学过程，促进针对药物成瘾的药靶发现与新药开发，而且在理论研究层面能够促进人们对脑功能的认识，揭开包含学习记忆在内的一系列重要生命现象的神秘面纱。

参 考 文 献

[1] Nestler E J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. Nat Rev Neurosci., 2001，2：119-128

[2] Nestler E J. Genes and addiction. Nat Genet.，2000，26：277-281

[3] Renthal W，Nestler E J. Epigenetic mechanisms in drug addiction. Trends Mol Med，2008，14：341-350

[4] Tsankova N，Renthal W，Kumar A，et al. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. Nat Rev Neurosci，2007，8：355-367

[5] Kelz M B，Nestler E J. ΔFosB：a molecular switch underlying long-term neural plasticity. Curr Opin Neurol，2000，13：715-720

[6] Eisch A J，Barrot M，Schad C A，et al. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA，2000，97：7579-7584

[7] Brandman O，Ferrell J E，Li R，et al. Interlinked fast and slow positive feedback loops drive reliable cell decisions. Science，2005，310：496-498

[8] Li C Y，Mao X，Wei L. Genes and (common) pathways underlying drug addiction. PLOS Comput Biol，2008，4：e2

[9] Tang L，Shukla P K，Wang L X，et al. Reversal of morphine antinociceptive tolerance and dependence by the acute supraspinal inhibition of $Ca^{(2+)}$/calmodulin-dependent protein kinase II. J Pharmacol Exp Ther.，2006，317：901-909

[10] Miller S，Yasuda M，Coats J K，et al. Disruption of dendritic translation of CaMKII α impairs stabilization of synaptic plasticity and memory consolidation. Neuron，2002，36：507-519

撰稿人：李川昀　魏丽萍

北京大学

审稿人：朱玉贤

智力与行为演化的分子机理

Molecular Mechanisms of Intellectual and Behavioral Evolution

人类的起源和演化是生物学研究的热点问题，而这其中人类所具备的高超的智力和行为能力的演化分子机理更是研究的重中之重。目前的研究成果表明，人类具有许多独特的智力和行为能力，例如心智理论（theory of mind，ToM）、结构化有语法的语言等[1]。我们如何能从微观的客观世界，即生物体内核酸和蛋白的特征入手，研究和理解智力和行为能力的演化呢？

分子生物学家在研究分子演化的过程中通常采用两类研究方法。一类是从宏观演化特征入手，选定特定目标基因，验证其是否是宏观特征的内在根源。通过这种研究方法进行人类智力和行为演化的研究有很多成功的例子，例如，*FOXP2* 基因的演化被发现与人类语言的形成有重要关系[2]；*ASPM* 基因的演化被发现导致了人类与黑猩猩相比具有更大的头围[3]。但是，由于分子网络功能和调控的复杂性，现在很多研究人员采用一种新的研究方法，即在没有先验知识的前提下通过大规模筛查的手段首先获得候选目标基因，然后再研究其功能和导致宏观现象机理的方法。目前，很多研究集中在对人类正向选择基因的筛选上。正向选择是在演化历史中，由于自然选择而不是遗传漂变得以固定下来的适应性演化，这种选择作用下的基因常常在物种形成过程中起重要作用[4]。通过人类物种内部多态性及人类与近缘物种（如黑猩猩等高级灵长类）的种间基因组序列比对，许多受到正向选择的候选基因被鉴定出来，为接下来针对候选基因研究其在智力和行为能力演化中起的具体作用提供了庞大的资料库[5,6]。然而，真正通过实验和观察证明这些基因对智力和行为能力的作用是一个具有高度挑战性的科学问题。

现有研究表明，除了原有基因通过突变带来新功能和表型外，人类特有新基因的产生也对于人类演化有很大意义。通过比较人类与黑猩猩等近缘物种的基因组和转录组数据，我们可以找到一批候选的人类所特有的新基因。但是这些候选基因究竟是不是真的是人类特有的功能基因仍需要很多后续试验手段如 RNA-Seq、蛋白免疫沉淀等方法的验证，而这些基因又在神经系统中发挥着怎样的功能，它们如何导致人类智力和行为能力的提高，更是具有挑战性的科学问题。

此外，除了人们所主要关注的对人类基因组编码区域的演化研究，非编码区域的演化可能在人类神经系统演化中起到了更大的作用。编码区域的演化容易在序列比对中被鉴别出来，而且其导致的蛋白质编码和功能改变通常直观可变，所以易于研究。但是在人类基因组中占绝大多数的非编码区域其演化可能更为普遍和重要。

由于非编码区域中包含各种顺向和反向调控元件，针对这些调控元件的演化可能改变目标基因的调控和表达通路，从而间接地影响相应蛋白质的表达和相互作用[7]。考虑到神经系统的复杂性和普遍关联性，这种比较温和的演化与直接改变蛋白质编码功能的编码区演化相比可能更容易被神经系统所接受。但是，目前对于非编码区域的演化研究面临很多困难，特别是如何确定同源的功能元件和如何对其适应性演化特征进行评估，这也是我们需要考虑的研究突破口之一。此外最近研究发现，外界环境的不同刺激会带来表观遗传学上的差异，这种差异可以被遗传[8]。对表观遗传学的研究是人类智力和行为演化研究的一个新的方向。总之，从人类基因组的多个层次研究智力与行为演化的分子机理将继续是一个充满研究乐趣和挑战性的科学问题。

参 考 文 献

[1] Siegal M，Varley R. Neural systems involved in “theory of mind”. Nat Rev Neurosci，2002，3：463-471

[2] Enard W M，Przewor ski S E，Fisher C S，et al. Molecular evolution of FOXP2，a gene involved in speech and language. Nature，2002，418：869-872

[3] Evans P D，Anderson J R，Vallender E J，et al. Adaptive evolution of ASPM，a major determinant of cerebral cortical size in humans. Hum Mol Genet，2004，13：489-494

[4] Gilbert S L，Dobyns W B，Lahn B T. Genetic links between brain development and brain evolution. Nat Rev Genet，2005，6：581-590

[5] Kosiol C，Tomáš V，Rute R，et al. Patterns of positive selection in six mammalian genomes. PLoS Genet，2008，4（8）：e1000144

[6] Oleksyk T K，Zhao K，de la Vega F M，et al. Identifying selected regions from heterozygosity and divergence using a light-coverage genomic dataset from two human populations. PLoS One，2008，3（3）：e1712

[7] Prabhakar S，Noonan J P，Pääbo S，et al. Accelerated evolution of conserved noncoding sequences in humans. Science，2006，314：786

[8] Mattick J S，Mehler M F. RNA editing，DNA recoding and the evolution of human cognition. Trends Neurosci，2008，31：227-233

撰稿人：黄 岳 魏丽萍

北京大学

审稿人：朱玉贤

怎样利用计算机模拟来了解动物感觉系统的计算机制?

How to Use Computer Simulations to Understand the Neural Mechanisms Underlying Sensory Computation?

近年来，越来越多的研究利用基于神经元网络的数学模型来研究神经系统，尤其是感觉功能方面的大规模神经元网络模型（如视觉皮层[1-3]或嗅觉触角体[4, 5]的动力系统模型）。这类研究绝大部分的工作在于大规模的数值仿真，从逼真的神经元模型以及符合生理的网络结构来了解大脑感觉功能的运行机制。计算神经生物学家试图通过此类的研究来模拟电生理现象，发现新的理论与计算机制，并进一步对神经生物学家提供的新的假说与未来的试验。我们希望在此计算理论的基础上来更深入地研究神经系统对复杂外来信号的编码、解码和整合。

作为神经生物学的基础研究方向之一，对感觉系统功能的研究中最多的是对视觉与嗅觉的研究。视觉是哺乳动物最发达的感觉，嗅觉是动物最古老的感觉之一。而对视觉功能的研究往往集中在视觉皮层的初级视皮层（primary visual cortex 或 V1）区。初级视皮层是在视觉传导通路上的第一个区域。视觉信息通过 V1 的动力网络处理之后传入 V2、V3、MT 等高等视觉皮层区域，继续接受处理与加工。然而多方面的现象已经显示了 V1 视觉处理过程中时空上复杂的多尺度特性：V1 的内部是由多层结构组成，而信号的前馈和反馈也有不同的时空尺度，反映了多个神经元群之间的动态以及相互作用。

系统神经生物学上最近的突破来源于技术上的发展。利用犹他多电极矩阵（Utah multi-electrode array），电生理学家可以同时测量一个神经元群体的动作电位及局部场电位（local field potential）。而现代多光子成像技术也有时间与空间上的较高的分辨率。Grinvald 等[6]利用电压敏感染料技术（voltage-sensitive dye）成像猫的初级视皮层，发现猫 V1 的自发活动（spontaneous activity，也就是在没有外来视觉刺激下的活动）定量地反映了猫 V1 功能网络上的朝向柱（orientation hypercolumn）结构。此工作不但鉴定了一个视皮层运行的操作点，把初级视皮层的结构与它电生理的动力学性质联系在一个水平上，同时也提供了数学模型动力学上的约束，给了计算神经学家一个有效的切入点[3]。而且新一代的测量技术发现感觉处理的动力学行为具有混沌系统的特征[7]。神经系统是如何利用这样复杂的动力学行为来有规律地进行外来信号的处理与加工？视觉功能的产生究竟是利用哪些神经元网络的动力学性质？

就嗅觉感觉系统研究而言，对昆虫的嗅觉感觉系统的研究可以为研究别的感觉系统提供思路。气味分子被嗅感受器初步编码，通过小球传输到触角体的投射神经元，然后再传输到蘑菇体和侧角。Laurent 等[8, 9]通过对蝗虫触角体的研究，利用主成分分析和局部线形嵌入（locally linear embedding）[10]分析触角体的投射神经元群体的时间序列，发现了触角体编码气味的一个机制。实验结果证明气味编码机制有低维数的动力学代表：三个主成分向量可以解释绝大部分的数据。而在此三维的“空间”内，每个独立的气味都有它独特的二维影射，而投射神经元群体在各个二维影射的“空间”里编码气味的浓度。目前已有两个不同的数学模型[4, 5]的行为符合 Laurent 组发现的数据结构。而且利用数学模型，我们可以系统地验证理论上的假说。比如，这些成功的模型有哪些结构上的共同点？是因为投射神经元本身具有的特性，还是神经元网络动力学行为所产生的编码机制？并且对蝗虫嗅觉系统的研究带给了计算神经生物学家另一个重要的启示！Laurent 等指出了神经元群在动力学上两个不同编码的机制与观念。目前我们在理论上偏向于利用稳态（steady state）来解释神经元与神经元群的活性。这有一大部分是因为经典数学在此方向有深厚的理论和普及的应用工具（如常微分方程的分叉理论）。可是 Laurent 等的研究指出了瞬时活性（transient dynamics）[9]对气味编码的重要性。我们渴望在瞬时动力学的理论探索会进一步地展开，而且在神经生物学研究里有决定性的应用。

最后，最新的试验技术也带给了计算神经生物学家一个新的挑战，也就是如何分析海量的同步的、多神经元的、多模式（multi-modal）的神经生理数据。在此方面，神经元网络的数学模型可以提供研究的理论框架。尤其在感觉功能初步加工的研究基础上，我们是否可以进一步地发现新的编码与解码原则，或者验证理论上已有的编码机制（例如，有效编码或稀疏编码）？虽然一些编码机制在理论中已有很好的应用，可是相关的神经元与神经元网络上的基础还需要我们更深入地研究。

参 考 文 献

[1] Tao L，Cai D，McLaughlin D，et al. Orientation selectivity in visual cortex by fluctuation-controlled criticality. Proc Natl Acad Sci USA，2006，103（34）：12911-12916

[2] Stimberg M，Wimmer K，Martin R，et al. The operating regime of local computations in primary visual cortex. Cereb Cortex，2009，19（9）：2166-2180

[3] Cai D，Rangan A V，McLaughlin D W. Architectural and synaptic mechanisms underlying coherent spontaneous activity in *V*1. Proc Natl Acad Sci USA，2005，102（16）：5868-5873

[4] Patel M，Rangan A V，Cai D. A large-scale model of the locust antennal lobe. J Comput Neurosci，2009，27（3）：553-567

[5] Bazhenov M，Stopfer M，Rabinovich M，et al. Model of cellular and network mechanisms for odor-evoked temporal patterning in the locust antennal lobe. Neuron，2001，30（2）：569-581

[6] Tsodyks M，Kenet T，Grinvald A，et al. Linking spontaneous activity of single cortical neurons and the underlying functional architecture. Science，1999，286 (5446)：1943-1946
[7] Kenet T，Bibitchkov D，Tsodyks M，et al. Spontaneously emerging cortical representations of visual attributes. Nature，2003，425 (6961)：954-956
[8] Stopfer M，Jayaraman V，Laurent G. Intensity versus identity coding in an olfactory system. Neuron，2003，39 (6)：991-1004
[9] Mazor O，Laurent G. Transient dynamics versus fixed points in odor representations by locust antennal lobe projection neurons. Neuron，2005，48 (4)：661-673
[10] Roweis S T，Saul L K. Nonlinear dimensionality reduction by locally linear embedding. Science，2000，290 (5500)：2323-2326

撰稿人： 陶乐天
北京大学
审稿人： 魏丽萍　程和平

神经退行性疾病中淀粉样物质积聚的机理是怎样的？

How Does Amyloid Aggregation form in Neurodegenerative Diseases?

神经退行性疾病是世界人口老年化的重大隐患，主要表现为记忆衰退，反应迟钝。在过去一百多年里，已发现的这类疾病有几十种，包括阿尔茨海默病、帕金森病等。尽管这些疾病的症状不尽相同，但都有一个共同的解剖特征，即神经细胞间或细胞内的 Amyloid（淀粉样物质）沉积的普遍存在和局部神经的坏死。因此，现在神经退行性疾病成因的主流观点是“Amyloid 假说”，即 Amyloid 是此类疾病的罪魁祸首。Amyloid 是一种特殊的蛋白质超级结构，它本身又是如何形成的呢？1959 年，通过电子显微镜对疾病组织的观察，发现了无分支伸展的 Amyloid 纤维。1968 年，对 Amyloid 的结构 X 射线解析发现其纤维结构是由规则的 β-片层积聚和延伸而形成的，延伸方向和纤维轴平行，β 肽链则和纤维轴垂直，这被称为“交叉-β”模式。在纤维轴平行方向，有一个 4.8Å 分辨率的 X 射线反射模式，在纤维轴的垂直方向，则有一个 8～11Å 分辨率的 X 射线反射模式。另外，所有的 Amyloid 纤维都能被刚果红染色。这些 Amyloid 的共同特征表明不同 Amyloid 的形成有类似的机理[1]。

在正常的生理条件下，天然蛋白质大都有正确折叠的规则三维结构，主要由 α-螺旋和 β-片层的分子内优化堆积组成，这些结构是蛋白质发挥正常生理功能的重要保障。在氨基酸突变或者特殊环境下，蛋白质可能发生去折叠和错误折叠，从而失去正常的生理功能，并有可能获得对细胞有毒性的非正常生理功能。所以，Amyloid形成的关键问题在于天然蛋白质在特定情况下是如何形成分子间 β-片层积聚和并进一步延伸成纤维结构的？解决这一问题的最佳方案是对这一过程进行直接微观观测，但遗憾的是目前缺乏这样的分子水平的高精度观测手段，尤其是无法观测比较早期的物理过程，即所谓的成核过程，包括从蛋白质单体到二聚体、三聚体等。因而人们退而求其次，希望通过解析 Amyloid 多聚体的原子结构来推断其形成的机理。对于大多数形成 Amyloid 的蛋白质来说，其规则的 Amyloid 晶体目前仍无法得到，因此无法得到原子结构。值得庆幸的是，通过固态核磁共振（NMR）等技术，老年痴呆症的主要病源 Aβ 的多聚体原子结构得以解析[2]。自 2005 年以来，Eisenberg 研究组又得到了一些短肽 Amyloid 微晶体和纤维的 X 射线高精度原子结构，为破解 Amyloid 的形成机理提供了很多线索[3，4]。

Amyloid 的原子结构表明 Amyloid 皆由大量平行的氢键网络组成，但不同体

系的片层内构象和片层间互补方式则不尽相同。所以，涉及 Amyloid 形成的物理机理仍有很多问题：如 Amyloid 是全局最低能态还是局部能量陷阱？形成 Amyloid 的蛋白质除了天然态是否还存在 Amyloid 态？二者之间是如何转换的？从单体到二聚体、三聚体的势垒有多高？几聚体是能量拐点？形成 Amyloid 的主要驱动力是氢键、范德华力、静电或别的什么作用力？要解释这些问题仅有几个多聚体原子结构是不够的，还需要理论计算的帮助。计算生物学家们在 Amyloid 的形成机理上也作了大量的研究工作，包括多聚体的结构模建、积聚过程的动态模拟，以及自由能计算等[5, 6]。但是 Amyloid 的模拟计算存在两大主要问题，一是能量的精确度不够，二是模拟过程的时间尺度不够。这两大问题就导致无法准确地模拟 Amyloid 积聚的过程和衡量这一过程中的能量变化。模拟时间尺度随着计算机硬件的飞速发展和模拟算法的革新一直都有明显的改善，精确度的问题则只能从根本上着手，即发展更精确的分子力场和溶剂模型，包括考虑极性化效应等。也有人采用更微观尺度的量子力学进行研究，但是计算体系的大小非常受限制，而且一般只能做单点计算，无法模拟动态过程；再者，量子力学本身也存在精确度的问题。总之，其应用前景仍不明朗。分子力场的发展和优化都是非常耗时的过程；在短时间内难以期待较大突破，所以是 Amyloid 形成机理理论研究的主要瓶颈之一。

Amyloid 的积聚除了自身因素外，对环境条件的改变也很敏感，这包括 pH、温度、压力、金属离子的浓度、水以外其他溶剂的组成和比例等[7]。这些外在因素更进一步增加了弄清 Amyloid 形成机理的难度。目前，无论是实验还是理论研究，都只能定性地考虑环境因素，很难将其提升到定量的高度，也就是将环境变化和聚合自由能、聚合速率直接数值关联起来。

以上着重强调 Amyloid 形成机理研究的重要性。另外，值得一提的是，“Amyloid 假说”自提出以来一直不断地在接受挑战。从系统生物学的角度来看，仅仅关注 Amyloid 是远远不够的，神经细胞内和细胞间的很多因素失调都能导致神经退行性疾病，例如以 Ubiquitin 为核心的蛋白质降解系统、内质网的蛋白质折叠系统、p53 途径、Notch 信号途径，以及神经递质多巴胺等。遗传关联分析更是发现有数百种基因与这类疾病相关[8]。所以，要认识清楚神经退行性疾病，还需要对相关诸多问题作更深入的研究。

参 考 文 献

[1] Chiti F，Dobson C M. Protein misfolding，functional amyloid，and human disease. Annu Rev Biochem，2006，75：333-366

[2] Petkova A T，Buntkowsky G，Dyda F，et al. Solid state NMR reveals a pH-dependent antiparallel β-sheet registry in fibrils formed by a β-amyloid peptide. J Mol Biol，2004，335：247-260

［3］ Nelson R，Sawaya M R，Balbirnie M，et al. Structure of the cross-b spine of amyloid-like fibrils. Nature，2005，435：773-778

［4］ Sawaya M R，Sambashivan S，Nelson R，et al. Atomic structures of amyloid cross-β spines reveal varied steric zippers. Nature，2007，447：453-457

［5］ Lei H，Wu C，Wang Z X，et al. Molecular dynamics simulations and free energy analyses on the dimer formation of an amyloidogenic heptamer peptide from human β-microglobulin：implication to the protofibril structure. J Mol Biol，2006，356：1049-1063

［6］ Ma B Y ，Nussinov R. Stabilities and conformations of Alzheimer's β-amyloid peptide oligomers（Aβ（16-22′）Aβ（16-35′）and Aβ（10-35））：sequence effects. Proc Natl Acad Sci USA，2002，99：14126-14131

［7］ Klimov D K，Straub J E ，Thirumalai D. Aqueous urea solution destabilizes Aβ（16-22）oligomers. Proc Natl Acad Sci USA，2004，101：14760-14765

［8］ Bertram L，Tanzi R E. Thirty tears of Alzheimer's disease genetics：the implications of systematic meta-analyses. Nat Rev Neuro，2008，9：768-778

撰稿人：雷红星

中国科学院北京基因组研究所

审稿人：李　林

蛋白质三维结构和功能是如何演化的?

How Do Three-dimensional Structures
and Functions of Proteins Evolve?

按照进化论，自然界中数目庞大、结构功能多样的蛋白质的集合是从为数有限的蛋白质“祖先分子”经过漫长进化而来的[1]。即使到了今天，自然界还能够在短时间内进化出有新功能的蛋白质。例如，一些人造化学品出现不久，自然界中就出现了专门分解它们的酶；一些新的抗生素投入使用数十个月后，某些微生物中就新进化出有抗药功能的新蛋白质。

蛋白质结构功能演化的基础是氨基酸序列改变。进化中最可能发生的序列变化事件，包括点突变即特定位置单个氨基酸残基类型改变、新序列片段插入、或序列片段丢失等。这些典型突变事件能够导致蛋白质演化出新结构或者新功能吗？如果能，其物理或化学机制是什么？导致新结构或新功能的序列变化有什么特点或规律？存在由多个氨基酸残基组成的演化单元吗？此外，蛋白质结构和功能演化是否和生物体本身的进化一样，存在不同的进化阶段？蛋白质空间结构是否只在有限数目、物理上可能的折叠类之间演化？现在自然界中所有的蛋白质在多大程度上涵盖了可能的折叠类？今后的进化过程中还会有新的蛋白质结构类型出现吗？尽管目前人们对这些问题还没有明确、肯定的答案，但以下几个方面的进展为回答其中一些问题提供了线索。

首先，结构域的组合重排能形成有新功能的多结构域蛋白[2,3]。结构域一般对应蛋白质空间结构中一个相对独立的物理单元。有的蛋白质只包含一个结构域，有的则包含多个结构域。自然界存在的很多例子表明，结构域组合后既可能修饰、改变结构域的原有功能，也可形成新的活性中心，导致全新功能的出现。此外，根据单结构域和多结构域蛋白在病毒、原核生物、真核生物等物种中的分布[4]，人们推论大部分单结构域蛋白质家族存在于这些生物分化前的“共同祖先”中，而多结构域蛋白质家族更可能出现在分化之后。在进化进入真核生物阶段后，新结构和功能可能主要通过既有结构域的重排来产生。

其次，多肽片段的重新组合，或者点突变、片段插入或缺失等进化中常见的序列变化可能导致新结构域出现[5]。例如，人们发现一些序列和结构相似、长度一般在 20～30 个氨基酸左右的多肽片段在某些蛋白质结构域内重复出现。天然蛋白质中的有些片段能够独立形成稳定的空间结构，或者与其他片段形成复合物，恢复完整蛋白的天然空间结构和功能。基于这些现象人们假设，在蛋白质结构域出现之

前，有关的多肽片段先出现。通过后续进化过程，多个片段被整合到同一多肽链中，导致新结构域。人们在自然界也观察到了不同空间结构类型之间通过片段插入、缺失等突变事件互相演化的例子。实验结果还暗示甚至通过点突变的积累就可能产生新结构类型[6]。需要指出的是，现在人们对结构域如何起源的认识仍然非常肤浅，尚不能确定目前假设的一些结构域演化途径在蛋白质结构域起源中是否有普遍意义。

最后，蛋白质的多功能性和空间结构的动态性，可能为蛋白质结构、功能的演化提供物理和化学上的机制[7]。传统观点认为，蛋白质结构和功能都是高度专一的。蛋白质在演化出新结构和功能之前，相应编码基因首先复制，导致同一生物个体拥有同一蛋白的两个基因。在后续进化过程中，其中之一保持其原来高度专一的结构功能，以满足生物体对原来功能的需求；而另一个可以不受限制地自由突变，偶然地产生新功能。这一假说很难解释有新功能的蛋白能够在数年至数十年之内就在自然界出现。因为在没有任何选择压力时，短时间的自由突变就会让相应的蛋白质失去结构功能，并被生物体丢失。另一种可能性是，在基因复制前，原蛋白质序列中发生能保持原有结构和功能的突变即“中性漂变”，偶然获得新功能。新功能不一定对生物体增强对当前环境的适应性有作用，可以称为“潜在”功能。生物体对原有功能的需求保证这些“漂变”后的基因会被保留下来。在环境变化后，“潜在”功能能够提高生物体对新环境的适应性，在后续进化中被复制、优化[6]。一个蛋白质同时有当前生理功能和其他“潜在功能”，即有多功能性，已获得广泛的实验证据支持。导致蛋白多功能性的可能机制之一，是蛋白质结构的动态性，即蛋白质结构不是静态的，而是处于不同构象状态之间的动态平衡中。蛋白质可能用不同的构象状态实现不同的功能。序列变化可能改变不同构象状态之间的分布，实现结构功能演化[7]。这一假说把序列变化的渐进性和蛋白质结构功能演化的不连续性统一起来了。

总之，随着蛋白质序列、结构、功能数据的积累，以及蛋白质设计和实验室进化等理论和实验方法的发展，蛋白质结构和功能如何演化的问题得到越来越广泛的关注。回答这些问题，不但能够帮助我们在分子层次认识生命起源和进化的机制，还能够指导我们设计和创造新的蛋白质分子，满足医药、工业等方面的需求。

参 考 文 献

［1］ Tokuriki N，Tawfik D S. Protein dynamism and evolvability. Science，2009，324：203-207

［2］ Levitt M. Nature of the protein universe. Proc Nat Acad Sci USA，2009，106：11079-11084

［3］ Bashton M，Chothial C. The generation of new protein functions by the combination of domains. Structure，2007，15：85-99

［4］ Grishin N V. Fold change in evolution of protein structures. J Struc. Biol，2001，134：167-185

[5] Goldstein R A. The structure of protein evolution and the evolution of protein structure. Curr Opin Struct Biol，2008，18：170-177

[6] Trifonov E N，Frenkel Z M. Evolution of protein modularity. Curr Opin Struct Biol，2009，19：335-340

[7] Blooma J D，Arnold F H. In the light of directed evolution：pathways of adaptive protein evolution. Proc Nat Acad Sci USA，2009，106（S1）：9995-10000

撰稿人：刘海燕
中国科学技术大学
审稿人：陈润生

蛋白质的动态性与其功能有什么内在关系？

How Does Protein Dynamics Relate to Its Function?

蛋白质是生命活动中最主要的功能执行者。蛋白质的氨基酸序列和空间结构多种多样，所参与的生物功能也是千差万别，涉及从生殖发育、遗传变异、生长代谢到衰老死亡等所有过程。研究人员一直都想弄清楚这些蛋白质大分子如何能够执行如此多样的生物功能。从历史上看，认识蛋白质的功能多样性是从分析蛋白质的序列和空间结构入手的[1]。自 20 世纪中期血红蛋白晶体结构被解析以来，人们已经知道了很多蛋白质及复合物的空间结构。近年来，结构解析方法学（晶体衍射、核磁共振、电镜）的发展，特别是结构基因组学的兴起，使得人们解析蛋白质结构的速度大大加快。但是，到目前为止我们在结构—功能关系方面的成果还是不能令人满意。迄今为止，我们依然不能很好地从蛋白质的一级序列去推断它的三维结构，更不能准确预测它的生物功能；甚至在已知三维结构的条件下也很难做到准确认识蛋白质的功能。因此，除了蛋白质的静态结构以外，是否还存在某种我们以往没有认识到的特性决定着蛋白质的功能发挥呢？如果是这样，这种特性又是什么呢？

从物质的特性来看，要描述一个蛋白质的物理性质，除了三维空间结构以外，还需要加上第四维——时间——来准确描述其特征。蛋白质是具有一定空间结构的实体，其三维性质，如人们熟知的疏水袋、套装环（loop）等，与生物功能紧密相关。然而，在溶液中，蛋白质处于不断运动和结构变化的状态；在活细胞内，蛋白质又要经历折叠、修饰、转运和组装成复合物等过程。这种运动的时间尺度随不同蛋白质、同一蛋白质在不同环境、同一蛋白质的不同部位而各不一样。例如，通常酶的活性部位的运动性较大，而二级结构部位较为刚性。因此，有人设想，与三维结构一样，动态学（dynamics）特征在决定蛋白质的功能中具有同等的重要性[2]。研究人员的一个梦想就是能够在原子水平上实时观测蛋白质的动态变化。因此，将来结构生物学的主要目标应该是在空间和时间上描述蛋白质中所有原子的特征，解释和预测蛋白质的生物功能。

由于结构研究方法的局限性，我们目前只是“拍到”了蛋白质在某个瞬间的图景。事实上，在溶液中蛋白质不像晶体结构所描述的那样仅仅是一个静态的结构，而是包含一个动态过程。从物理学的观念上看，蛋白质在热运动作用下，在平衡结构附近存在一个数目巨大的构象组合，即构象簇[3]。是否可以设想，正是这种丰富的构象簇实现了蛋白质与配体结合强度和模式的多样性。对于这些构象簇如何与其他蛋白质的相互识别（如酶与底物识别）的问题还是缺乏明确的认识。另外，真核

生物体内蛋白质翻译后经历肽链折叠、各种修饰、跨膜转运、配体作用和降解过程等，那么这些过程是怎样影响蛋白质的动态构象，从而调控生物功能呢？现在从实验上观察蛋白质原子水平的实时运动还有一定难度，但是随着技术的进步，我们已经拥有了很多强大的探测蛋白质动态的工具。蛋白质运动的时间尺度很宽，从化学键的振动、侧链基团的旋转，到主链的运动、结构域的蠕动及整个蛋白质结构的翻转等。这个过程囊括了从飞秒到千秒的一个很宽的时间尺度。核磁共振技术仍然是目前为止在原子水平观测蛋白质动态的最有效手段[3,4]，其中常规弛豫实验技术可以观测皮秒到纳秒尺度的蛋白质动态；CPMG 弛豫离散技术、顺磁弛豫增强等技术可以观测微秒到毫秒尺度的运动，酶的催化反应就发生在这个尺度。结合氢氘交换等方法还可以检测秒到千秒这个尺度的运动。一个完整的蛋白质动态图景必须包括以上种种运动尺度。值得庆幸的是，目前已认识到蛋白质分子正是通过它局部的一些原子在快的时间尺度下的热平衡涨落来协同完成慢时间尺度的运动。尽管我们可以知道蛋白质分子中各个原子在某些时间尺度中的运动状况，但并不清楚究竟是什么原因使它们发生这样或那样的运动。如今利用分子模拟技术，可以研究蛋白质分子从纳秒到微秒的精确运动状况，结合一些假设和简化技术甚至可以模拟更长时间尺度的运动，也许将来我们能够实现从头计算预测蛋白质的结构。借助以往的各类实验方法，我们只是研究了一定数目蛋白质的整体平均特征，对于单个蛋白质分子是如何运动的问题还是知之甚少。可是，这种平均而消失的信息对蛋白质的功能究竟发挥了多大的作用呢？近年来发展起来的单分子技术很好地弥补了这个缺陷。同样地，小角散射技术[5]、时间分辨晶体学[6]、时间分辨荧光都将发挥重要作用。目前各种技术正在发展与完善，也许我们正处在研究蛋白质动态学的黄金时代。

过去人们普遍认为蛋白质的生物功能仅仅与其三维空间结构紧密相关。然而近来发现基因组中存在大量的内在无结构（intrinsically unstructured）的蛋白质（约占基因组的三分之一）[7]。这些蛋白质也同样具有特定的生物功能，推想其功能与肽链的动态行为有关，如配体结合、构象变化和功能调节。研究表明这类内在无结构蛋白质由于肽链的运动和可变性，往往能够与多种其他蛋白质相互作用，从而发挥一个枢纽功能。以往由于技术方法的局限，我们的研究会不由自主地选择有固定结构的蛋白质，而忽略了这类内在无结构蛋白质的存在。既然蛋白质的本性有两面，一面是静态三维结构，另一面就是动态性质，那么在研究蛋白质动态过程中发展起来的各种技术，将成为研究内在无结构蛋白质的最合适、最有效的实验方法。在这方面生物大分子核磁共振技术仍然是最重要的原子分辨的动态研究手段[7]。

尽管目前有一些研究开始涉及蛋白质的动态问题，但究竟蛋白质的动态行为、静态结构和生物功能三者之间存在着怎样的内在关系，仍是一个悬而未决的难题。随着动态技术的发展和研究的深入，我们终将逐步揭开蛋白质本质的神秘面纱。

参 考 文 献

［1］ Anfinsen C B. Principles that govern the folding of protein chains. Science，1973，181：223-230

［2］ Henzler-Wildman K A，Lei M，Thai V，et al. A hierarchy of timescales in protein dynamics is linked to enzyme catalysis. Nature，2007，450：913-916

［3］ Lange O F，Lakomek N A，Fares C，et al. Recognition dynamics up to microseconds revealed from an RDC-derived ubiquitin ensemble in solution. Science，2008，320：1471-1475

［4］ Sprangers R，Kay L E. Quantitative dynamics and binding studies of the 20S proteasome by NMR. Nature，2007，445：618-622

［5］ Hura G L，Menon A L，Hammel M，et al. Robust，high-throughput solution structural analyses by small angle X-ray scattering（SAXS）. Nat Methods，2009，6：606-612

［6］ Schotte F，Lim M，Jackson T A，et al. Watching a protein as it functions with 150-ps time-resolved x-ray crystallography. Science，2003，300：1944-1947

［7］ Sugase K，Dyson H J，Wright P E. Mechanism of coupled folding and binding of an intrinsically disordered protein. Nature，2007，447：1021-1025

撰稿人：胡红雨

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人：李 林

胆固醇在细胞内是如何运输的?

How Is Cholesterol Transported in Cells?

胆固醇是哺乳动物细胞中含量最丰富的甾醇类分子，它在生物体内发挥着极其重要的生物学功能，是所有动物细胞生存所必需。胆固醇是极度疏水的小分子，它镶嵌在磷脂双分子层中，调节膜的流动性和相变（图 1）。胆固醇还是合成胆汁酸、甾醇类激素及一些维生素的前体。研究还发现胆固醇在动物的胚胎发育中起十分重要的作用；胆固醇又和鞘磷脂在质膜上形成一种称为脂筏（lipid rafts）结构而参与了细胞信号转导[1,2]。

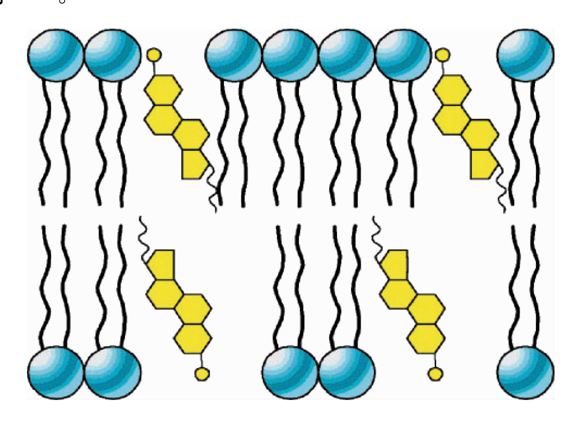


图 1　细胞质膜的流动镶嵌模型

正常生理条件下，高等生物细胞中的胆固醇水平被维持在一定的浓度范围之内。哺乳动物体内胆固醇代谢异常会引发严重的疾病，如动脉粥样硬化、尼曼-匹克氏（Niemann-Pick C，NPC）病、阿尔茨海默病，甚至一些肿瘤的发生都与胆固醇代谢异常直接相关。

胆固醇在细胞内是动态运输的。在哺乳动物细胞中，游离胆固醇主要分布在细胞质膜和内吞循环体中，其他细胞器中胆固醇的含量都非常低[3]；内质网是细胞内胆固醇合成的主要部位；细胞内过量的游离胆固醇被酰基辅酶 A-胆固醇酰基转移酶（ACAT）催化，与脂肪酸形成胆固醇酯后，储存在脂滴中；同时，线粒体可以将胆固醇氧化并合成甾醇类激素和胆汁酸，供生物体利用。由此可见，胆固醇的动态平衡确保细胞发挥正常的功能及生物体的正常生命活动。

细胞内胆固醇运输异常会引发严重疾病：①动脉粥样硬化是一种常见的危害极大的疾病，其发病机理是巨噬细胞迁移到血管内皮下并通过其表面的清道夫受体吸

收大量胆固醇，巨噬细胞不能够有效外排胆固醇并堆积胆固醇酯而转变为泡沫细胞，大量泡沫细胞在血管内皮下积累，从而形成动脉粥样硬化斑块。②NPC疾病是一种由于胆固醇在溶酶体中大量累积而导致的严重的神经退行性病变。低密度脂蛋白是细胞摄取胆固醇的主要来源。低密度脂蛋白被细胞表面的低密度脂蛋白受体识别并内吞进入细胞，通过一系列的膜泡运输被转移到溶酶体中水解并释放出胆固醇供细胞利用。NPC1 是定位在溶酶体上的一个跨膜蛋白，它的突变使得低密度脂蛋白来源的胆固醇无法被运送出溶酶体，从而产生 NPC 疾病。③Tangier's疾病则是由于 *ABCA*1 基因突变，导致细胞中的胆固醇不能被运走，许多组织中堆积大量的胆固醇，诱发心脑血管疾病。因此，更深入地研究细胞内胆固醇的运输能够为有效治疗胆固醇代谢引发的疾病提供理论依据。

细胞内胆固醇的运输主要通过两种方式进行：膜泡运输和非膜泡运输。一种称为 NPC1L1（Niemann-Pick C1 like 1）的蛋白质介导的饮食胆固醇的吸收是目前研究的比较深入的依赖膜泡运输胆固醇的方式。NPC1L1 虽然与 NPC1 具有很高的同源性，但它们的亚细胞定位是不同的。在正常培养条件下，NPC1L1 定位于内吞循环体中。当细胞处于胆固醇饥饿的条件下，NPC1L1 能够感知胆固醇水平的降低，并通过与 Myosin Vb/Rab11a/Rab11a-FIP2 相互作用，沿着微丝转移到细胞质膜上[4]。如果给细胞递送胆固醇，NPC1L1 能够携带胆固醇进入细胞，NPC1L1 在细胞质膜上与 AP2 接头蛋白结合的同时与网格蛋白（clathrin）相互作用，沿着微丝返回内吞循环体，完成对胆固醇的吸收。研究人员还揭示出临床上使用的抑制胆固醇吸收的药物益适纯（Ezetimibe）能够影响 NPC1L1 与 AP2 和网格蛋白的相互作用，阻断 NPC1L1 的内吞，进而抑制细胞对胆固醇的吸收[5]。

胆固醇的非膜泡运输方式主要是由一些能够结合胆固醇的蛋白因子参与，如 SCP-2、OSBP 和 StAR 等。SCP-2 是一个非特异的甾醇转运蛋白。它不但能结合胆固醇，而且还能够结合脂肪酸和磷脂等其他脂类分子[6]。目前认为 SCP-2 能够在细胞内的不同区域间转运甾醇和脂质，它也可以将胆固醇转移到质膜上。OSBP 最早被鉴定出能够结合氧化型甾醇[7]，最近研究发现 OSBP 也可以结合胆固醇，可能参与胆固醇的非膜泡形式运输。StAR 能够有效地将胆固醇从线粒体外膜运输到线粒体的内膜，在此胆固醇转变成类固醇合成的前体孕烯醇酮[8]。不排除 StAR 将胆固醇转运到线粒体外膜中，再由其他蛋白质将胆固醇转运到线粒体内膜中。除了 StAR 外，人还具有至少 14 种与 StAR 同源的蛋白质，其中有 MLN64 和 STARD5 能和胆固醇结合，它们的功能都不清楚。

总之，细胞内胆固醇的运输是一个非常复杂的过程。以往的研究已经取得了一些进展，一些新的参与细胞内胆固醇运输的蛋白质因子已经被鉴定出来，新的实验方法的发展也为今后的研究工作奠定了基础。但是，人们对细胞内胆固醇运输的过程还是知之甚少。例如 NPC1L1、SCP-2、OSBP 和 StAR 只是一些鉴定出的参与

胆固醇运输的因子，许多未知的蛋白质因子和难题尚待发现和解决。胆固醇在细胞内分布是不均一的，缺少直接的方法测量不同膜组分中的胆固醇。细胞内两个细胞器之间胆固醇的运输可能是直接的，也可能存在中间状态。胆固醇的膜泡运输和非膜泡运输很可能交织在一起。在同一个细胞器中，胆固醇还可能分布在不同的微结构域中，使得胆固醇向不同的途径运输。这些复杂性使得对细胞内胆固醇运输的研究面临很大困难。然而，随着研究进程的深入和研究方法的进步，相信关于细胞内胆固醇运输的研究会取得更大的突破。

参考文献

[1] Simons K，Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. Nature，1997，387：569-572

[2] Anderson R A，Joyce C，Davis M，et al. Identification of a form of acyl-CoA：cholesterol acyltransferase specific to liver and intestine in nonhuman primates. J. Biol. Chem.，1998，273：26747-26754

[3] Schroeder F，Nemecz G. Transmembrane Cholesterol Distribution. *In*：Esfahani M，Swaney J，Telford Press，Caldwell，NJ，Advances in Cholesterol Research. New York：CRC Press，1990，47-87

[4] Chu B B，Ge L，Xie C，et al. Requirement of myosin Vb/Rab11a/Rab11-FIP2 complex in cholesterol-regulated translocation of Niemann-Pick C1 like 1 protein to the cell surface. J. Biol. Chem.，2009，284（33）：22481-22490

[5] Ge L，Wang J，Qi W，et al. The cholesterol absorption inhibitor ezetimibe acts by blocking the sterol-induced internalization of NPC1L1. Cell Metab.，2008，6：508-519

[6] Seedorf U，Ellinghaus P，Roch N J. Sterol carrier protein-2. Biochem Biophys Acta，2000，1486：45-54

[7] Kandutsch A A，Shown E P. Assay of oxysterol-binding protein in a mouse fibroblast，cell-free system. Dissociation constant and other properties of the system. J. Biol. Chem.，1981，256：13068-13073

[8] Stocco D M，Clark B J. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. Endocr Rev.，1996，17：221-244

撰稿人：王　江　宋保亮

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人：李　林

核酸是唯一的遗传物质吗？

Nucleic Acid：the Only Genetic Material for Organisms？

核酸是遗传物质

1944 年，美国细菌学家艾弗里（Oswald Theodore Avery）通过研究肺炎球菌转化时发现并证明，DNA 是细菌体内唯一的遗传物质[1]。1952 年，科学家更提出证据证明当一种病毒感染细菌时，只有其 DNA 进入细胞质内，而蛋白质全部丢弃在细菌外面，只有 DNA 才可指导整个病毒在细菌内的所有行动。此后，逆转录病毒的遗传物质被发现是作为信使核酸的 RNA。至此，科学界便接受了核酸是遗传物质的理论。

那么，DNA 和 RNA 是生物体唯一的遗传物质吗？

朊病毒（prion）

最早挑战“核酸是唯一的遗传物质”这一概念的是一类称之为“朊病毒”（prion）的“病原体”。早在 300 年前，人们已经注意到在绵羊和山羊身上患的“羊瘙痒症”。其症状表现为：丧失协调性、站立不稳、烦躁不安、奇痒难熬，直至瘫痪死亡。20 世纪 60 年代，英国生物学家阿尔卑斯（Alper Tikvah）用放射处理破坏患有“羊瘙痒症”的羊只的 DNA 和 RNA 后，其组织仍具感染性[2]。阿尔卑斯因而认为“羊瘙痒症”的致病因子并非核酸，而可能是蛋白质。后来几十年的研究证实，“羊瘙痒症”的罪魁祸首是一种具有传染性的，称为“朊病毒”的蛋白质。朊病毒是细胞正常蛋白经变构后而获得致病性。这种正常的细胞蛋白名为 PrP^c，大多数哺乳动物的基因组均编码，并在许多组织，尤其是神经元及淋巴内皮细胞中表达。1997 年诺贝尔医学奖的获得者普西纳（Prusiner Stanley Ben）博士就是在阮病毒研究方面做出杰出贡献的代表[3]。

从表面上看，朊病毒以“蛋白质-蛋白质”的方式进行复制，因此，在相当长的一段时间内，人们认为朊病毒是一类以蛋白质作为遗传物质的类病毒生物。然而，实验证明，用基因敲除技术培育的缺乏 PrP^c 基因的小鼠，在接种痒病朊病毒蛋白后不发病，如将正常脑组织块移植到此种转基因小鼠的脑内，接种后仅移植的正常部位发生病变。由此可见，区别与传统意义上的病毒，朊病毒有控制

其发生的正常细胞的 DNA，换言之，朊病毒只是细胞内蛋白质在分子水平的病变。

染色质（染色体）的表观遗传修饰

由于经典的分子生物学理论是基于对原核生物的研究，当人们把传统概念应用于高等生物，如哺乳动物时，新的问题出现了。例如，在高等生物中，尽管生殖细胞具备全能性，但在个体发育的过程中，不同类型细胞的基因表达谱式往往是天壤之别，细胞命运也发生了显著的分化。重要的是，细胞的分化事件是可遗传的，直至发育的完成，同类型的细胞构成各类组织执行独立的机能。很显然，简单的“DNA-DNA”复制模式无法解释这一个体发育过程中的遗传问题。那么，是什么物质负责“记忆”并遗传发育过程中的基因表达谱式呢？科学家比较了人类和黑猩猩的基因组 DNA 序列，结果发现了 96%以上的相似性。但事实上，黑猩猩与人除了体型相似之外，在语言与智力等方面大相径庭。那么，人类的这种内在“能力”又是如何遗传获得的呢？又如，人类个体的基因组 DNA 序列 99.9%相同，而人与人之间的性格却各不相同；子女的性格有时像父母，有时却不像父母。这又如何解释？也许“表观遗传”可以用来解释上面提出的问题。

人们把这些在没有细胞核 DNA 序列改变时，基因功能可逆的、可遗传的改变称之为表观遗传。事实上，表观遗传学（epigenetics）的概念早在 20 世纪 40 年代就已经提出[4]，但直到最近 20 年才得以充分认识[5]。表观遗传学的核心研究内容被集中于 DNA 的载体——染色质上。其中，组蛋白是将 DNA 折叠形成染色质的关键蛋白。双拷贝的组蛋白 H2A、H2B、H3、H4 组成的八聚体与其上缠绕 1.75 圈的 147 个碱基对构成核小体核心，再与组蛋白 H1 间隔构成核小体，串珠状的核小体反复盘绕折叠构成染色质（图 1）。组蛋白的羧基端球状结构域作为核小体的核心构架，而氨基端则暴露在外。组蛋白，尤其是它暴露的氨基端，会经历一系列翻译后修饰，如乙酰化、甲基化等。人们发现，哺乳动物细胞中 DNA 也能被甲基化修饰。最近几十年的研究证实，染色质的表观遗传修饰参与了几乎所有的 DNA 代谢过程，包括转录、复制、损伤修复等。在个体发育的过程中，基因组表观遗传修饰的差异，决定了细胞分化的走向。于是，不少科学家提出，对于真核生物，作为 DNA 的载体——染色体（染色质），才是完整的遗传物质[7]。

然而，染色体作为遗传物质的说法存在一个疑问，表观遗传修饰在细胞分裂过程中是否能像 DNA 一样严谨地遗传？分子生物学的研究告诉我们，细胞内存在一大类蛋白质能够指导基因组特定位置的表观遗传修饰，这些特定修饰在个体发育的特定时相被起始并相对稳定地维持。然而，表观遗传修饰又具有“可塑”的特

点。这种“准严谨”的遗传方式为相同物种的个体差异提供了一定的分子解释[8]。

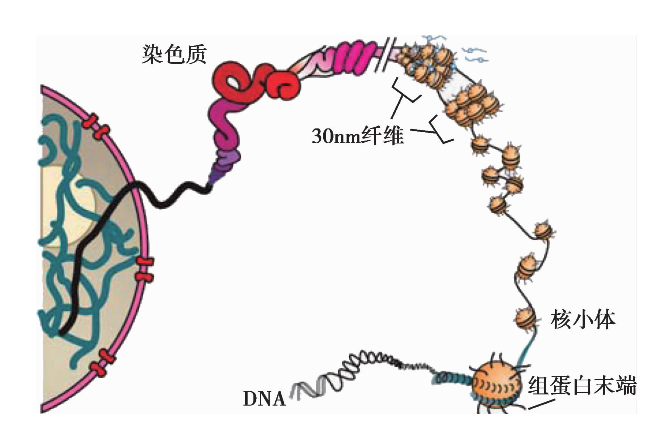


图 1　真核生物的染色体结构（修改自[6]）
真核生物染色体的基本组成单元是核小体。它是由双拷贝的组蛋白 H2A、H2B、H3 、H4 组成的八聚体与其上缠绕 1.75 圈的 147 个碱基对构成的。染色体的表观遗传修饰主要发生在 DNA 和组蛋白的游离端上

2008 年，威尔森（Wilson Michael）等报道了一个挑战性的结果。他们把人的第 21 号染色体转入小鼠细胞内，然后分析该染色体的基因表达谱式。结果发现，该染色体在小鼠内的基因表达谱式完全模拟了人体内的谱式，而不是类似于其在小鼠体内对应的染色体（第 16 号染色体）的谱式。由此他们得出结论，基因表达完全取决于 DNA 序列，而与细胞核环境（包括表观遗传修饰）无关[9]。但不久便有科学家质疑，完全移植染色体，在移植基因的同时，事实上也移植了基因上游的调控序列，指导了与人细胞内类似的表观遗传事件，而负责修饰的酶系统在小鼠细胞内是与人又是几乎一致的。因此，他们得出了一个截然相反的结论，“染色体移植”实验恰恰证明基因的表达谱式受控于上游的调控事件，而非基因序列本身[10]。

小结

作为遗传物质至少要具备以下四个条件：①在细胞生长和繁殖的过程中能够精确地复制自己；②能够指导蛋白质合成从而控制生物的性状和新陈代谢；③具有贮存巨大数量遗传信息的潜在能力；④结构比较稳定，但在特殊情况下又能发生突变，而且突变以后还能继续复制，并能遗传给后代。

科学研究已经充分证明，核酸（脱氧核糖核酸 DNA 和核糖核酸 RNA）具备

上述四个条件，是生物体必需的遗传物质。绝大多数生物体的主要遗传物质是DNA，有些病毒的遗传物质是RNA。尽管蛋白质不能自主复制，但在特殊条件下，它能借助细胞内的天然蛋白质实现“遗传”的目的（朊病毒）。表观遗传调控是发生在染色质水平而控制细胞的性状稳定遗传的方式。因此，真核生物中的表观遗传是否是生命进化的表现，染色体是否是真核生物的遗传物质，这可能会是21世纪分子生物学研究的焦点之一。

参 考 文 献

［1］ Avery O T，MacLeod C M，McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus type III. Mol Med，1944，1，344-365

［2］ Alper T，Cramp W A，Haig D A，et al. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? Nature，1967，214：764-766

［3］ McKinley M P，Bolton D C，Prusiner S B. A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. Cell，1983，35：57-62

［4］ Waddington C H. The epigenotype. Endeavour，1942，1：18-20

［5］ Goldberg A D，Allis C D，Bernstein E. Epigenetics：a landscape takes shape. Cell，2007，128：635-638

［6］ Qiu J. Epigenetics：unfinished symphony. Nature，2006，441：143-145

［7］ Cavalli G. Chromatin as a eukaryotic template of genetic information. Curr Opin Cell Biol，2002，14：269-278

［8］ Wang Y，Wysocka J，Perlin J R，et al. Linking covalent histone modifications to epigenetics：the rigidity and plasticity of the marks，Cold Spring Harb Symp Quant Biol，2004，69：161-169

［9］ Wilson M D，Barbosa-Morais N L，Schmidt D，et al. Species-specific transcription in mice carrying human chromosome 21. Science，2008，322：434-438

［10］ Coller H A，Kruglyak L. Genetics：It's the sequence，stupid! Science，2008，322：380-381

撰稿人：周　波　周金秋

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人：李　林

为什么有的酶催化反应的最适温度很高而有的却很低？

Mechanism of Thermozymes and Cold Adapted Enzymes

酶是生物催化剂，它与一般化学催化剂的作用机制有相似性，它所催化的反应速率受温度影响。对于大多数酶来说反应温度每升高 10℃速率提高一倍。但是当温度明显升高之后酶就会变性乃至失活。一般来说，动物细胞内的酶的最适反应温度在 35～40℃，植物细胞内的酶的最适反应温度在 40～50℃。

深海的温度并不是均匀的。有的生物生活在深海热液区，有的生活在深海冷泉。从深海热液区（以及陆上热泉）分离得到的微生物，由于长期生活在高温环境中，它们细胞内的酶能在较高温度下发挥催化作用；而在深海冷泉分离得到的微生物，它们细胞内的酶在较低温度下仍然能发挥较好的催化作用。我国海洋科学家曾经根据深海极端环境高温高压的特点设计了平台，实现了极端嗜热、嗜压古菌（107℃、1200 个标准大气压①）的培养。嗜热菌培养的成功为研究高温酶创造了条件。

耐热酶的最适反应温度在 60～125℃。高温下酶蛋白会变性失活，甚至发生化学键断裂。高温酶的稳定包括热力学的稳定与动力学的稳定[1,2]。如果我们了解了酶在高温下稳定与催化的机制，就可以通过基因工程等手段来对酶进行改造，有可能使一般的酶转变成为能在高温下发挥作用而不易失活的酶，进而有利于被利用于工业催化过程。一方面酶催化的条件比工业催化要来得温和，而且在高温下大多数细菌不能繁殖，因此用高温酶催化来进行生产时对于环境的无菌要求也较低。这些都可以极大地降低生产成本；另一方面酶的催化作用的专一性、手性等化学催化特色有着无可比拟的良好应用前景。

高温酶的提纯相对比较简单，可以通过热处理来除去许多热不稳定的杂蛋白。自 20 世纪 70 年代中期起，一些高温酶的晶体结构逐渐被解析。虽然比较高温酶与常温酶之间的结构并没有发现新的氨基酸或新的共价修饰和新的结构基元。但是积累的一些初步资料提示使高温酶的结构比较稳定的因素包括：分子内相互作用较多，如氢键、二硫键和结合金属等；带电荷的氨基酸残基较多，静电相互作用较强；带有分支侧链的疏水氨基酸残基较多，疏水核心较强；相应的蛋白质肽链比较短，较小的蛋白质的热容量变化较小从而有较宽的蛋白质稳定曲线等。此外，高温酶也有一些构象特点，如比较刚性，α螺旋比较稳定等[3,4]。但是酶在发挥作用时

① 1 标准大气压＝1.013 25×10^5 Pa

需要有柔性，结构比较稳定的高温酶是如何保证酶（至少是酶的活性中心）在催化时的柔性是这个难题的主要内容之一。

一般酶在低温下的催化效率较低。而且随着温度的下降，酶分子内的疏水相互作用将变弱。多亚基酶的亚基间相互作用主要通过疏水键，疏水键减弱后就有可能因亚基结合减弱以至产生解离导致冷失活。深海冷泉微生物的酶是如何在较低的温度下就能发挥很好的催化作用的，它在结构与功能上有什么特点，是这个难题的另一个方面。已知的低温脂酶的结构特点包括：精氨酸/赖氨酸比值很低，脯氨酸的含量也低，酶的疏水核心较小，分子中盐桥和芳香-芳香基团相互作用很少等。低温酶在低温下有高比活力，它的活性中心周围一般有高度的柔性。由于它们的热稳定性较低，酶催化的最适温度就偏低[5]。低温酶在生产与生活上有不少用途，例如添加嗜冷菌蛋白酶、嗜冷菌脂肪酶的洗涤剂可以比较有效地在冷水中起到去除纺织品上污渍的作用。

近来有报道显示有的嗜热核酸酶、嗜冷脂肪酶等与已知同类酶没有明显的序列同源性[6]。这给研究酶的结构与功能提供了很好的材料。另一方面如果能够通过生物工程将低温酶的高转换率与高温酶的高温度稳定性这二者结合起来，那么就会得到非常高效的有应用前景的酶[7]。

参 考 文 献

[1] Kumar S，Nussinov R. How do thermophilic proteins deal with heat? Cell Mol Life Sci.，2001，58：1216-1233

[2] Li W F，Zhou X X，Lu P. Structural features of thermozymes. Biotechnology Adv.，2005，23：271- 281

[3] Unsworth L D，Van der Oost J，Koutsopoulos S，et al. Hyperthermophilic enzymes - stability，activity and implementation strategies for high temperature applications. FEBS J.，2007，274：4044 - 4056

[4] Littlechild J A，Guy J，Connelly S，et al. Natural methods of protein stabilization：Biochem. Soc. Trans.，2007，35：1558 - 1563

[5] D'Amico S，Claverie P，Collins T，et al. Molecular basis of cold adaptation. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B，2002，357：918 - 925

[6] Siddiqui K S，Cavivvhioli R. Cold-adapted enzymes. Annu. Rev. Biochem.，2006，75：403 - 433

[7] Joseph B，Ramteke P W，Thomas G，et al. Cold active microbial lipases：some hot issues and recent developments. Biotechnol Adv.，2008，26：457-470

撰稿人：林其谁

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人：李　林

为什么有的病毒不致病？

Why Some Viruses Do Not Induce Disease?

病毒，是迄今人类发现的个体最小、没有细胞结构，组成最为简单的一种生命形式，它必须依赖所侵染的寄主细胞来提供它完成生命活动所需的物质和能量。早在几千年前，人类就有了关于病毒病害的文字和雕像记载。在公元前 3700 年的一块古埃及石刻浮雕中，就描绘了雕像中的一位人物跛足的画面，这实际上是感染脊髓灰质炎病毒后的病状。公元前 1000 年，大哲学家亚里士多德（Aristotle）也记述了疯狗咬人（即狂犬病）的事件。公元前 200～300 年，印度和中国也曾记录下天花大流行。在 12 世纪中叶，我国《农书》中也描述了家蚕“高节”、“脚肿”等病症（家蚕核型多角体病毒病）。虽然这些病毒病很早就被人类所发现并记载，但是古代人们却一直不清楚到底是什么病原引起了这些病害。直到 1898 年，荷兰的一位细菌学家贝杰林克（Beijerinck）在研究烟草花叶病时才真正发现这类病原是一种比细菌还小的“传染性活液”，并起名为“virus（病毒）”以区别于细菌，由此开启了病毒学研究的历程。

人们对病毒的认识往往与其在寄主上引起病症相关。艾滋病、狂犬病、禽流感、甲型流感、天花和埃博拉等骇人听闻的病症都是因病毒侵染所致。因而，在许多人的心目中，病毒总是与疾病和死亡紧密联系在一起。那么，是不是所有病毒都是致病的呢？事实上并非所有的病毒都会导致疾病。在感染人的病毒中，有些病毒进入寄主细胞后并不会对受感染的细胞或器官产生明显的伤害。一些病毒能够与寄主细胞长期共存、相安无事，不影响寄主的生长与繁殖；而有一些病毒甚至还赋予寄主应对环境胁迫的能力，使寄主获益。

如腺相关病毒（adeno-associated virus，AAV）是在人体中发现的一种病毒，大多数人都受到过它的感染，但却没有引发过任何疾病。AAV 可以在人体内进行复制与繁殖，但是对寄主细胞的影响不明显。科学家们将 AAV 编码的部分基因剔除，构建出一种重组的 AAV 病毒载体，重组载体可插入一些治疗基因，而治疗基因通过 AAV 被导入人体中，使其在人体体内长期、稳定地表达，进而治疗一些遗传疾病或癌症[1]。还有一种被称为内源性逆转录病毒（endogenous retroviruses，ERV），在进化过程中就与哺乳动物的细胞形成了非常亲密的关系，可以说人类机体的正常运作离不开 ERV 的帮助。通过分析人类全基因组序列后发现，在人类基因组中至少有 8%的序列来源于 ERV[2]。美国 Georgia 理工学院的研究表明，人体内有 1743 个基因从 ERV 启动子序列上起始或终止转录，有些 ERV 启动子序列甚

至可能决定其下游的基因只在某些特定的组织器官或某个特定的时期才能表达[3]，说明ERV序列可以在很大程度上影响人类基因的表达。ERV序列可能曾在人体基因组中发生过大规模缺失、重复和染色体重组，这些过程也促进了人类基因组的进化。可见ERV在调控人类基因组功能以及进化方面具有十分大的影响。有趣的是，其他哺乳动物的基因组中也发现了大量ERV序列的存在，这些序列与人类的ERV序列相似性很高，推测这些序列可能是10～50万年前某种哺乳动物的祖先感染ERV病毒后在基因组中残存下来的，并演化成为高级哺乳动物DNA的组成部分[4]。脊椎动物以及人类在自身进化过程中可能从病毒那里获得过100多种基因，甚至连人体内的DNA复制酶系统都有可能来源于病毒。在植物中，有一类属双分病毒科的病毒在寄主细胞中的浓度极低，侵染植物后不引起症状，侵染植物的病毒仅通过胚珠和花粉传播到种子的胚。在健康植物（如萝卜）基因组中能检测多种双分病毒科病毒的序列。

一些病毒在侵染寄主的过程中，给寄主带来的有益作用可能大于其产生的不利影响。荷兰在16世纪早期发现一种花色十分艳丽的郁金香，当时的人们不惜出高价购买这种被珍视为“特别的品种”的杂色郁金香，因而导致了“郁金香热”现象。事实上这种郁金香是感染上了一种植物病毒——郁金香碎色病毒，病毒侵染后使得花朵变得色彩斑斓。有研究表明，病毒的侵染可以提高其寄主在抵抗非生物胁迫时的应答能力。美国Noble基金会植物生物学系的科学家在研究一种热带黍草及其内生真菌的互利共生关系时，发现当它们共同存在的情况下，两者均可以在温度高达65℃的土壤中生长。进一步研究发现，这种内生真菌体内感染了一种病毒，当病毒在真菌体内大量存在时，无论是内生真菌还是黍草均可以在高温土壤中生长2周以上，而当真菌不含病毒时，不管真菌还是黍草都无法在高于38℃的土壤中生长。因此，真菌病毒能够增强其寄主真菌及其共生植物耐受高温的能力[5]。随后该研究机构又发现多种植物病毒也能提高寄主植物的抗逆性，当雀麦花叶病毒、黄瓜花叶病毒、烟草花叶病毒以及烟草脆裂病毒侵染烟草后，在干旱或低温胁迫条件下，4种病毒的侵染均可以推迟烟草出现干旱症状，这些病毒侵染后能提高被侵染植物体内渗透保护物质以及抗氧化物质的含量，从而帮助植物更好地适应胁迫环境，并且还有利于寄主植物随后的恢复及再生长过程[6]。

美国Georgia大学的科学家们在蚜虫体内发现了一种寄生细菌，这种细菌可以被另一种细菌病毒（噬菌体）所侵染，噬菌体在侵染寄生细菌的过程中会释放出一种毒素，这种毒素随后被寄生细菌传递到蚜虫体内，可以阻止蚜虫的天敌黄蜂在蚜虫体内产卵，从而帮助蚜虫抵御天敌，同时还一定程度上增强了蚜虫的免疫系统[7]。不少病毒可以在昆虫体内复制、增殖，但病毒的这些增殖过程对昆虫寄主的影响很小，如呼肠孤病毒科的多种病毒可以侵染寄主昆虫并在昆虫体内进行增殖，

但对寄主昆虫却不引起任何明显病害。水稻条纹病毒、水稻矮缩病毒及水稻瘤矮病毒等能同时侵染植物及昆虫，它们在介体昆虫灰飞虱或叶蝉中能复制与增殖，介体昆虫可以终身传毒，且病毒还能进入虫卵经卵传递给昆虫后代，一般在介体繁殖5～6代后还能在介体体内检测到病毒。然而，带毒的介体昆虫不会表现严重病症，这些病毒对昆虫是非致病的。

越来越多的研究表明，病毒在生物进化中扮演十分重要的角色。大自然中的病毒不单单只扮演致病者的角色，而且极可能在各种生物体中作为一种辅助因素帮助寄主生物适应各种各样的环境，还有可能与寄主生物互惠互利、协同进化。尽管全球在非致病病毒的研究方面已经开展了一系列的工作，但是仍然有许多未知的问题有待我们探索。例如，非致病病毒的种类有多少？它们在各种生物的生命活动中扮演了哪些重要的角色？这些病毒是如何与寄主协同进化？病毒所编码的一些有益功能是何时以及如何被寄主生物吸收并整合入基因组中的？哺乳动物中的这些病毒序列到底是病毒早期侵染祖先后遗留在动物基因组中的残余序列，还是这些病毒序列实际上原本属于哺乳动物，只是早期从哺乳动物基因组中脱离出来，经过漫长的进化后才演变为现在的病毒？这些非致病性病毒是否有可能在某种环境因素的激发下转变为致病性病毒？它们能否经过改造后用于基因功能的鉴定以及遗传疾病和癌症的治疗？

目前发现的这些有趣现象促使人们对病毒的起源、病毒与寄主的共进化及病毒对寄主的有益功能等方面进行深入研究，从而更全面地认识病毒的本质。随着分子生物学、分子病毒学的迅速发展，相信这些问题会在不久的将来得到一一解答！

参 考 文 献

［1］ Flotte T R. Gene therapy progress and prospects：recombinant adeno-associated virus（rAAV）vectors. Gene Therapy，2004，11，805-810

［2］ Bromham L. The human zoo：endogenous retroviruses in the human genome. Trends in Ecology & Evolution，2002，17，91-97

［3］ Conley A B，Piriyapongsa J，Jordan I K. Retroviral promoters in the human genome. Bioinformatics，2008，24，1563-1567

［4］ Hughes J F，Coffin J M. Evidence for genomic rearrangements mediated by human endogenous retroviruses during primate evolution. Nature Genetics，2001，29，487-489

［5］ Marquez L M，Redman R S，Rodriguez R J，et al. A virus in a fungus in a plant：three-way symbiosis required for thermal tolerance. Science，2007，315，513-515

［6］ Xu P，Chen F，Mannas J P，et al. Virus infection improves drought tolerance. New Phytologist，2008，180，911-921

[7] Oliver K M, Degnan P H, Hunter M S, et al. Bacteriophages encode factors required for protection in a symbiotic mutualism. Science，2009，325，992-994

撰稿人：刘　舟　周雪平
浙江大学
审稿人：李　毅　方荣祥

什么是非编码 RNA?

What Is the Non-Coding RNA

要了解非编码 RNA，首先得了解非编码序列

自 20 世纪 50 年代 Watson 和 Crick 提出著名的 DNA 双螺旋结构模型及随后确定了遗传信息流从 DNA→RNA→蛋白质这样的“中心法则”以来，人们认识到生物体的复杂结构和功能是由基因组上一段称为基因的 DNA 序列及其表达的蛋白质决定的。因此，基因组上的基因也被称为编码序列，因为，这一段 DNA 序列编码一个蛋白质的氨基酸序列。

20 世纪 90 年代开展起来的人类基因组计划发现：基因组 DNA 上编码蛋白质的序列（即通常所说的基因）只占人类基因组的一小部分，不会超过整个基因组的 3%，其余 97%左右的 DNA 序列都不编码任何多肽或蛋白质。由于它们的绝大部分仍不清楚功能，开始科学家们习惯把这部分 DNA 统称为“非编码 DNA”或“Junk” DNA，这就是基因组中的非编码序列。为什么人类基因组中有这么多的非编码序列？它们的功能是什么？这是当前科学家们关注的热点问题，也是亟待解决的科学难题。

通过对完整基因组的比较发现，低等生物，如病毒、细菌等只有少量的非编码序列，而高等的动、植物则含有大量非编码序列，它们甚至占据着基因组的大部分。这就是说，伴随着生物从简单到复杂、从低级到高级、从信息少到信息多，非编码序列不断增加。它意味着非编码序列可能蕴涵着生物体复杂的功能信息。通过对完整基因组的比较还发现，线虫和果蝇的基因数（约 12 000～14 000）仅是酵母（约 6000）的两倍，而高等哺乳类如人、鼠的基因数（约 3 万）也仅是线虫和果蝇的两倍。基因数目的增加似不能反映生物复杂性的增加。SNP（single-nucleotide polymorphisms，单核苷酸多态性）是代表基因组 DNA 上差别的，现已发现的 300 多万个人类非冗余 SNP 位点，98%以上分布在非编码区，这也显示哺乳动物中表型变化很大程度上与非编码序列有关。近年来，黑猩猩基因组的研究结果也发现人和黑猩猩的基因几乎是一样的，约 1‰的基因组序列差异主要在非编码序列[1]。

对于非编码序列的功能与特征了解的还不多。已知功能的非编码元件包括：某些调节元，如启动子、增强子、抑制子等；某些与染色体复制相关的元件，如复制起始位点、端粒、中心粒等。未知功能，但了解一些序列特征的非编码元件包括：

假基因和重复序列等。值得着重提出的是重复序列，因为它们在高等生物基因组中特别多。如在人类基因组中约有 45％的基因组序列是重复序列。所谓重复序列是指：基因组中重复出现的核苷酸序列。按序列重复次数，重复序列可分为：高度重复序列和中度重复序列，分别重复单元的重复次数为几万至几百万次和几十次到几千次。按序列特征，重复序列可分为：串联重复序列和散置重复序列。串联重复序列是由短的核苷酸序列作为重复单元，并由这些单元紧密连接组成的序列，如异染色质上的卫星 DNA。散置重复序列是指重复单元不紧密连接，而是散在的分布于整个基因组中的序列。在人类基因组中，典型的散置重复序列有：LINE（long interspersed nuclear elements，长散置重复序列）、SINE（short interspersed nuclear elements，短散置重复序列）、LTR（long terminal repeats，长末端重复序列）、Transposons（转座子）等，它们又各自包含有多个子类型。

非编码序列是转录的，其转录产物就是非编码 RNA

中心法则告诉我们，基因组 DNA 发挥功能的重要方式是转录产生 RNA。非编码序列如果具有生物功能，它也应是转录的。近年来大量的高等生物全基因组水平的转录研究表明，基因组的绝大部分 DNA 序列是有转录产物的，例如：人类基因组 DNA 90％以上是转录的，线虫基因组 DNA 70％以上是转录的。这些转录出来的 RNA 只有少部分用来编码蛋白质（即：mRNA），大部分产物是非编码 RNA。因此，非编码 RNA 是基因组中非编码序列的转录产物。

越来越多的事实证明非编码 RNA 具有重要的生物功能。RNA 干涉和 micro RNA的研究就是最突出的例子。2006 年 10 月 2 日瑞典卡罗林斯卡医学院宣布，将 2006 年诺贝尔生理学或医学奖授予两名美国科学家安德鲁·菲尔（Andrew Z. Fire）和克雷格·梅洛（Craig C. Mello），以表彰他们发现了 RNA 干涉现象。RNA 干涉的研究源于转录后基因沉默（post-transcriptional gene silencing，PTGS）现象，它最早发现存在于矮牵牛和少数几种植物当中。这种特殊现象表现为，当对这些植物进行转基因后，导入的基因和其相似的内源基因同时都被抑制。进一步的实验表明同源转录本确实出现过，但是很快被降解了。对这一现象的深入研究开始于 20 世纪 90 年代，当时一些科学家以线虫（*Caenorhabditis elegans*）为对象探讨用反义 RNA 去阻断基因的表达，结果反义 RNA 的确能够阻断基因的表达，但是奇怪的是，作为对照的正义链 RNA 也同样阻断了基因的表达。此后安德鲁·菲尔和克雷格·梅洛以同时包含正义链和反义链的双链 RNA（double-stranded RNA，dsRNA）去阻断基因的表达，结果表现出比单独注射正义链或者反义链都要强得多的基因沉默现象。这种由 RNA 导致的基因沉默现象被称为 RNA 干涉（RNA interference，RNAi）[2]。对 RNA 干涉机制的研究发现：dsRNA 一旦进入

细胞内，就会被一个称为 Dicer 的特定的酶切割成为 21～23 个核苷酸长的小分子干扰 RNA（small interfering RNAs ，siRNA）片段。Dicer 酶属于 RNaseIII 家族中能特异识别双链 RNA 的成员，它以 ATP 依赖的方式切割由外源导入或者由转基因、病毒感染等各种方式引入的双链 RNA。切割产生的 siRNA 片段随后与一些酶结合成为诱导沉默复合体（RNA-induced silencing complex，RISC）。激活的 RISC 通过碱基配对定位到与 siRNA 同源的 mRNA 转录本上，并在距离 siRNA 3′端一定的位置上切割该 mRNA，这样就使与此 mRNA 相应的特定基因成为沉默状态。继线虫之后，在果蝇中也发现了 RNA 干涉。大量研究已表明，RNA 干涉广泛存在于从真菌到植物、从无脊椎动物到哺乳动物的各种生物中，甚至也存在于低等的原核生物中。从遗传学、分子生物学和生化学角度进行的研究也指出转录后基因沉默（PTGS）和 RNA 干涉可能在生命进化的早期就存在。有人提出转录后基因沉默可能是进化过程中一种抵御转座子或 RNA 病毒的防御机制，是生物使用的一种古老的抗病毒策略，可能在植物和动物分化之前就已经出现。

20 世纪 90 年代美国 Dartmouth 医学院 Victor Ambros 小组以线虫为对象用基因打靶技术研究某些基因对其发育的影响。他们找到了一个对发育有明显干扰的基因。通常线虫要通过四个幼虫阶段才能成熟，这个基因的突变使其只停留在第一阶段。令人们惊奇的是这个基因并不编码任何蛋白质，而是编码一个 microRNA。以后的研究证明，这样的小 RNA 基因在多种生物体中都存在。现在科学家们正系统地从真菌到植物、从无脊椎动物到哺乳动物，甚至也从低等的原核生物中寻找 microRNA基因。除了长度为 21～24 个碱基的 microRNA 以外，其他的小 RNA 也不断被发现。2006 年 7 月，独立进行研究工作的两个小组分别发现了一类新的小 RNA，它们与 Argonaute 家族的一个分支、即 Piwi 类蛋白发生相互作用。这些睾丸特有的小 RNA，被称为 piRNA，比以前所描述的小 RNA 稍长一些，长度为 26～31 个碱基。事实上各种长度的非编码 RNA 还很多，本文作者的实验室也在线虫中发现了两类新的小非编码 RNA[3]。非编码 RNA 不仅参与了众多基础而重要的生命过程，而且与众多动物和人类疾病有关。*PCGEM*1 是 2000 年被发现的一个非编码基因，2004 年这个基因被报道与前列腺癌有关[4]。*His*-1 是小鼠的一个非编码基因，1999 年科学家报道它与小鼠白血病有关，而且证明这个基因参与了癌变代谢通路，并且参与了细胞周期调控[5]。*MALAT*-1 的转录本是一条 8000 多个碱基长度的非编码 RNA，2003 年该基因被证明与非小细胞肺癌有关[6]。这些例子证明了很多非编码 RNA 是有生物学功能的。这些功能非编码 RNA 在基因组上对应的位置就称为非编码基因。随着人们对非编码 RNA 功能的了解，非编码基因的数目将会不断增加。小 RNA 的出现重新唤起了科学家们对“RNA 世界”的重视及对“生命起源于 RNA 分子”这一命题的兴趣。

当前，非编码序列、非编码基因和非编码 RNA 的研究已引起国际上的广泛关

注，成为了热点研究领域，这也为生物信息学提供了前所未有的机遇和严重的挑战。在编码基因预测与蛋白质模拟领域多年来发展的一系列理论方法，多数不适宜非编码的研究。目前发现的非编码 RNA 长度都较短（20～200bp），且没有三联码的属性，很难使用统计学的方法发现它们的特征。另外，预测非编码 RNA 空间结构以及它们的靶基因的方法也很少，这些都急待解决。随着成千上万非编码 RNA 分子的发现，它们必然组成 RNA-RNA 相互作用网络参与调节细胞中的生命活动，它们与蛋白质-蛋白质相互作用网络相对应，好比宇宙学中的暗物质与亮物质。过去，人们一直以为生物功能主要是由蛋白质实现的，因此，以蛋白质为中心开展了大量的功能与调控研究，发现了大量关于蛋白质产生、调控和代谢的途径及相关网络。这些发现为人类认识生命活动的本质作出了巨大贡献。未来若干年对非编码 RNA 的研究会越来越多。科学家们将努力发现各种不同的非编码 RNA；将仔细研究它们的各种新的生物学功能；将探讨非编码 RNA 与蛋白质的相互作用，并得到丰富的有非编码 RNA 参与的途径及相关网络。过去，如果我们认为生物网络是以蛋白质为组件构建而成的，是单色的；那么，未来的生物网络应当至少是由蛋白质和非编码 RNA 两类元件共同构成的，是双色的。为此，我们认为引入“双色网络”的概念到生物网络和系统生物学研究当中是极为必要的，这也为发展新的物理理论、技术、方法提供了依据。

继“人类基因组计划”之后，生命科学领域另一国际合作计划——“DNA 元件百科全书”计划（Encyclopedia of DNA Elements，简称 ENCODE）日前发表了一系列重要研究成果[7]，这一批新成果表明组蛋白修饰，DNase I 超敏感度与转录及复制有着广泛的联系，这些联系强有力地支持着一种猜想，就是基因组有着更高层次的功能组织域。因此，人类基因组本身就是一个极其复杂的网络，所谓的“Junk” DNA 实际上非常少。蛋白质编码基因只不过是众多具有特定功能的 DNA 序列元件的一种。ENCODE 计划挑战了关于人类基因组的传统理论，即我们的基因组不是由孤立的基因和大量“无用 DNA 片段”组成的，而是一个复杂的网络系统。单个基因、各种调控元件以及非编码的其他类型的功能 DNA 序列之间有着复杂的相互作用，共同控制着人类的生理活动。ENCODE 计划促使我们重新考虑长期以来关于“基因”的概念和对于基因组功能元件及组织机制的认识，这将对与人类疾病相关研究产生革命性的影响，为进一步认识整个人类基因组的功能蓝图开辟道路。

ENCODE 计划的进一步深入，需要发展新方法和新技术。而在新方法和新技术的开发中，发展理论方面的新手段也同样受到关注。另外，将支持向量机（SVM）、隐马氏模型（HMM），以及小波分析等成熟的数理方法适当发展并应用到生物学问题当中也显得极为重要。

非编码研究领域存在着大量重要而未解决的科学问题，例如，还有多少种类的

非编码基因未被发现？它们的功能是什么？它们是如何被表达调控的？它们的基本生物学作用规律与蛋白质相同吗？……。

近年来非编码的研究已与当前多个生物领域的热点方向，如表观遗传学、干细胞等紧密地联系在一起，这将有力促进生命科学前沿群的发展，也值得仔细关注。

参 考 文 献

[1] The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium，Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome，Nature，2005，437：69-87

[2] Andrew F，Xu SQ，Mary K. M，et al. ，Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans，Nature，1998，391：806-811

[3] Deng W，Zhu X P，Chen R S，et al. Organization of the Caenorhabditis elegans small non-coding transcriptome：Genomic features，biogenesis，and expression. Genome Res，2006，16（1）：20

[4] Petrovics G，Zheng W，Makarem M，et al. Elevated expression of PCGEM1，a prostate-specific gene with cell growth-promoting function，is associated with high-risk prostate cancer patients Oncogene，2004，23：605

[5] Xu F，Mcfarland M，Askew D S. His-1：A noncoding RNA implicated in mouse leukemogenesis Histol. Histopathol.，1999，14：235

[6] Ji P，Diederichs S，Wang W B，et al. MALAT-1，a novel noncoding RNA，and thymosin b4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer oncogene，2003，22：8031

[7] The Encode Project Consortium. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. Nature，2007，447：799

撰稿人：陈润生

中国科学院生物物理研究所

审稿人：金由辛

测序技术还能走多远?

Sequencing Technology, How Far Can It Go?

当前，生命科学以及基础医学的飞速发展，DNA 测序技术起着至关重要的作用。

自 1953 年，Watson 与 Crick 发现了 DNA 双螺旋结构，从而找到了遗传的分子学基础，之后分子生物学就成为了生命科学的核心领域，不断迅速发展。人类基因组 DNA 由大约 30 亿对核苷酸分子组成，而每个核苷酸分子含有下面四种碱基中的一种：腺嘌呤（adenine，A）、胞嘧啶（cytosine，C）、鸟嘌呤（guanine，G）和胸腺嘧啶（thymine，T），它们遵循“A 和 T；G 和 C”这样的配对原则。这样双向反平行的两条互补 DNA 链构成了人类基因组。20 世纪 70 年代，著名科学家桑格（Frederick Sanger）发明了双脱氧测序方法，是后来大部分测序方法的基础，也成为第一代测序仪的主流方法。这项技术又被称为分离测序法，在测序过程中，DNA 经过多次复制，制造出足够多的 DNA 片段，然后在最后一次的复制过程中，在 DNA 末端加上带有荧光标记的终止核苷酸（双脱氧），这样就产生了长度不一的片段，这些片段在电泳过程当中依照长度不同而分开，较短的片段移动的较快，于是片段末端标记通过检测仪时，就可以采集到四种碱基各自特有的荧光信号，从而读出原始 DNA 序列的字母排列。桑格测序法精准可靠，但是费时且昂贵。

有了 DNA 测序法，美国科学家于 20 世纪 80 年代首次提出“人类基因组计划”（HGP），希望能解读人类自身的 DNA 序列这部“天书”，最终于 2005 年，在多国科学家合作下，花费了上百亿美元，拿出了第一张人类基因组序列的精细图谱。但是，如此费时费力而又如此昂贵的基因组测序工作，只能由大型测序中心依靠国家资助来完成。廉价的基因组测序始终是众多科学家和生物技术公司为之努力的目标。因为，若能以这样的价格在短时间内完成个人基因组序列测定的话，相信大多数人都会有机会测出自身的基因组序列并存储起来，医疗诊断时就会有一份前所未有的基因组数据供医生参考。基于个人基因组序列的众多信息会像今天的血糖、血压、体温、白细胞含量等大众化诊断指标一样，得以广泛的应用。没有人会怀疑，这将会在医疗领域掀起一场新的革命。同时，在基础研究领域，众多的个体基因组数据可以用来做比较研究，从而使科学家能够找出各种的致病位点以及诊断和治疗靶标。

由此看来，发展新的测序方法，缩减耗时限速步骤，减少昂贵试剂用量，使用

小型的自动化设备来进行大规模平行反应以降低成本就成为了发展廉价测序的途径。目前，引发了新一轮“测序大战”的正是这样的被称为第二代高通量测序技术。这种技术一般被称为“合成测序法”，采用并行技术。合成测序模拟细胞 DNA 复制过程，即当 DNA 聚合酶将核苷酸加在新的互补链引物之后（或者，DNA 连接酶确认某段探针核苷酸短链与原始序列互补配对之后），我们就可以检测信号，从而推算出原始序列的字母排列了。现在，成熟的可用于检测的信号大致分成两类：一类是将不同的荧光分子连接在不同的核苷酸上面，透过光学显微镜即可检测颜色信号（ABI 的 SOLiD 和 Illumina 的 Solexa）；另一类是利用生物发光蛋白，例如荧光素酶，来检测核苷酸连接时所释放出的焦磷酸（Roche/454 的 GS20）[1]。当然，两种方式都需要同时有大量反应进行，释放出足够强的信号才能被侦测到，于是科学家们也发展了众多的扩增方法，例如，“油包水 PCR”等。

美国研究机构已经提出计划，争取到 2014 年能实现 1000 美元测序个人基因组的目标；并承诺第一个达成这一目标的团队可能获得巨额的奖金。虽然，目前依旧困难重重，但距离目标其实并不那么遥远。英国《独立报》2007 年 5 月 27 日的报道，美国“454 生命科技公司”完成沃森（Watson）基因组测序的工作。5 月 30 日在得克萨斯州的贝勒大学举行的庆祝仪式上，诺贝尔奖获得者、“DNA 之父”、79 岁的美国生物学家沃森获得了一张储存着自己全部基因序列的 DVD 光盘。5 月 31 日，沃森的个人基因组图谱还被收入到美国国家健康协会的数据库，并向全世界公开。有关专家称，这样一来，有兴趣的研究者可以上网查询沃森的基因组图谱，依据其基因排列顺序推断，沃森是否害羞、爱不爱冒险、会不会患上精神疾病等与基因遗传有关的表象特征。454 生命科学公司创始人乔纳森·罗思伯格也承认，与“人类基因组图谱计划”相比，沃森个人的基因组图谱所用时间和金钱大幅下降，得益于技术进步。绘制沃森基因组图谱的“工程”前后只用了不到 2 年时间，花费也只有 100 万美元。乔纳森说：“绘制个人基因组图谱的成本还会进一步下降。我们正朝着 1 万美元基因组图谱努力，而且不久会是 1000 美元基因组图谱。”当然，沃森本人认为这个过程可能还需要 15 年时间。另据英国《泰晤士报》2009 年 2 月 9 日报道，美国 Illumina 生物技术公司承诺，在未来五年内，每个新生儿都将拥有属于自己的基因组图，这不仅在技术上是可行的，每个家庭也负担得起。但由于法律和社会道德的约束，可能会推迟这一目标的实现。可是，Illumina 公司首席执行官杰伊·弗拉特利称，到 2019 年，为每个新生儿制定基因组图将成为“例行公事”[2]。

其实，在朝着“千美元个人基因组测序”这一目标前进的途中，技术难题当然是最为主要的障碍，例如，怎样使序列一次性读取的更长，怎样进一步提高测序精准度从而达到医用诊断标准水平等。但另一个不容忽视的因素，就是随之而来的伦理、道德以及个人信息安全等问题，当科学家致力于测序技术的突破与新的发现

时，上述重要而困难的问题同样需要我们积极且认真地去对待，仔细探讨先进技术所带来的潜在危险与益处。

我们坚信，技术困难终会被克服，而在各国科学家与政府积极的协调与应对下，伦理、法律问题也会圆满解决，在未来的5～10年内“1000美元个人基因组测序”的目标必定能实现。

有了第二代高通量测序仪，测序技术还会继续发展吗？答案是肯定的。当前，多种更廉价、更快速的第三代“单分子测序”技术正在发展之中，比如，目前利用四种碱基物理性质差异获取可读信号的纳米孔测序法。这种方法有点类似于“DNA CT”，将单链舒展线型DNA径直推过直径大约1.5nm的孔洞，会造成孔洞的导电性的波动，不同碱基造成的变化有微小的差异，从而可用于辨别信号和碱基序列。还有利用石墨烯与核酸相互作用设计的测序方法等。当然，任何检测单个分子信号的技术都非常难，但这种基于物理相互作用的测序方式可以从根本上解决许多目前测序的问题，所以有独特的发展前途。

我们深信，测序技术必将一代代地发展下去。若干年后，从原理到结构都会与当前的技术有根本的不同。测序将成为人们日常生活中最为普遍的检测手段。

参考文献

［1］ Zhou X G，Ren L F，Li Y T，et al. The next-generation sequencing technology：a technology review and future perspective. Science in China Series C Life Sciences，2010，53（1）：1-14

［2］ Michael L M. Sequencing technologies—the next generation. Nature Reviews Genetics，2010，11：31-46

撰稿人：吴　涛　陈润生

中国科学院生物物理研究所

审稿人：于　军

如何才能制造出人造细胞？

Synthetic Cell：How to Make It Tick？

细胞是生命活动的基本单位，它承载着35亿年地球生命起源与进化的记忆，蕴藏着无穷无尽的生命的奥秘与智慧。在科学家已经读出了人类基因组的全部序列，基因工程正在改造从酵母到哺乳动物的基因组的今天，在人工生物膜研究不断深入，分子组装、纳米机器不再是科学幻想的时候，人们能够在实验室试管里，用化学小分子物质制造出细胞（artificial cell，synthetic cell）吗？这一天方夜谭式的命题正在催生一个新兴的科学领域——合成生物学（synthetic biology）。而在试管里制造具有三大基本生命特征——新陈代谢、自我复制和定向进化——的生物系统，即“活”着的细胞（图1），已成为后基因组时代极具雄心、极具想象力的一个目标。

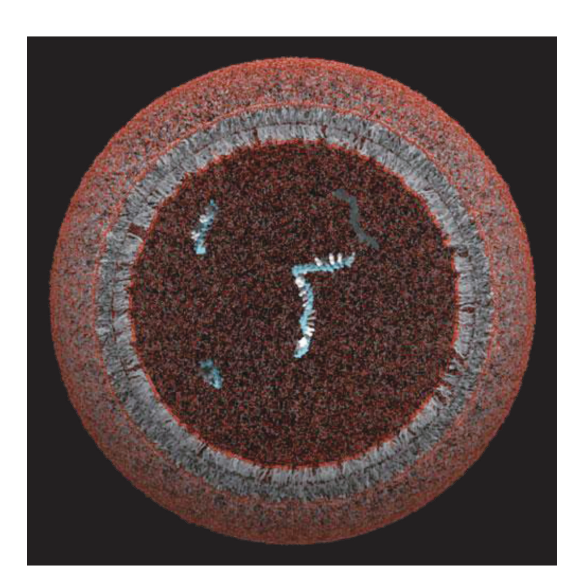
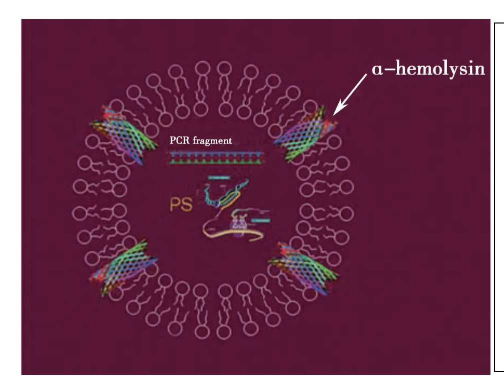


图1　人造细胞想象图[1]

目前的研究路线大致可分“自下而上（bottom up）”和“自上而下（top down）”两种。前者着眼于构造组建细胞的标准构件、模块，例如生物大分子、代谢通路和反应体系等，以模拟细胞某一最简化的生命特征；后者侧重设计、制造人工基因组，并移植到剔除了天然基因组的细胞中构成半人造细胞，探求支持细胞自由独立存活所必需的最简基因组（minimal genome）。两方面的研究都已取得重要

进展。

在“自下而上”的研究路线上，需要解决的难题可分为三个层次。首先，如何实现各类生物大分子（DNA、RNA、蛋白质和酶等）的人工合成？特别是，催化合成的第一个酶从何而来？其次，如何利用人造（或纯化）的生物大分子构建细胞功能模块（如复制、转录、翻译、基因调控、能量代谢等）？第三，如何构建具有小分子转运及选择性通透能力的膜生物容器，并将上述反应体系包裹其中，完成人造细胞的自组装？早在 1964 年，旅加华人 TM Chang 就报道如何在水溶液中用尼龙（nylon）等多聚化合物制备 1～100μm 大小的囊泡，该囊泡对小分子有通透性，包裹了红细胞匀浆后，无论是在体外或植入体内，都能长时间维持多种酶（如 carbonic anahyrase，urease）的催化活性[2]。20 世纪 60 年代到 80 年代，我国科学家就先后合成了具有生物活性的人工牛胰岛素[3]（51 个氨基酸残基；分子质量 5.8kDa）和 tRNA[4]（76 个核苷酸；分子质量 26KDa）。近年来，利用脂质体（liposome）包裹生物大分子作为生化反应器（bioreactor）实现复杂的生化过程（如蛋白质合成）已取得了长足的进步。日本 Ueda 实验室在 *E. Coli* 中分别表达纯化了 36 种翻译因子（translational factor），并制备了纯品核糖体（ribosome），将它们重组并加入必要的小分子物质就构成了一个完备的蛋白表达体系，这一组分完全确定的体系被命名为 Puresystem[5]（图 2）。加入 EGFP 的质粒后，在 Puresystem 中可以直接观测到荧光。



36 enzymes
- Iniziation factors:　IF1. IF2. IF3.
- Elongation factors:　EF1. EF2. EF3.
- Release factors:　RF1. RF2. RF3.
- Ribosome recycling factor（RRF）.
- 20 amnoacyl-tRNA synthetases
- Methionyl-tRNA formyltransferase（MTF）
- T7RNA polymerase
- Creatine phosphate. Creatine kinase. myokinase. nucleoside diphosphate kinase. pyrophosphatase.

图 2　Puresystem 在脂质体中合成蛋白质[6]

人工基因组研究包括设计、制备、移植三个方面。已知的最小可独立复制的细胞基因组如 *Myoplasma genitalium* 仅含 517 基因，全长 583 kb。即便如此，人们相信其中仍有相当一部分可能是冗余基因，或是退化失去功能的基因，甚至是应激反应的基因，而不是维持细胞活性所必需的。在理想的实验室生长条件下，支持最简细胞（minimal cell）的最简基因组是什么呢？以 *Myoplasma* 基因组为对象，大规模全域转座子插入分析表明在 2209 个插入突变中，1354 个插入突变是非致死

的，提示 480 个蛋白编码基因中只有 265～350 个可能是必需的。基于生物信息学、比较基因组学以及基因操作实验结果，有人设计了仅含 151 个基因 113kb 的人工基因组，这些必需基因包括 113 个蛋白编码和 38 个 RNA 编码，功能包涵 DNA 复制、RNA 转录、修饰、蛋白质翻译等，但省略了小分子合成等其他细胞功能（图 3）。随着对蛋白结构与功能的深入了解，各功能蛋白的编码长度有望进一步压缩，一个全长在 100kb 以下的最简基因组是可以预期的。

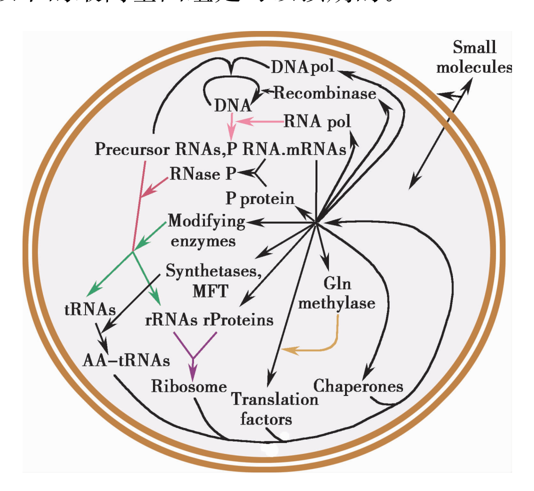


图 3　一种人造最简细胞生物大分子和信号通路设计图[7]

那么如何制造人工基因组呢？Venter 研究所 Smith 和同事们最近完成了 *Myoplasma genitalium* 基因组人工制备、移植的壮举。他们先用化学合成的寡核苷酸组成 5～7 kb 的片段，利用体外重组形成 24、72（1/8 基因组）和 144 kb（1/4 基因组）的中间体，在 *E. Coli* 和酵母中重组克隆并确认后，获得完整无误的 *Myoplasma genitalium* 基因组（同时加入了抗性标记）。另外，Venter 研究所还发展了基于 polyethylene glycol 的“基因组移植（genome transplantation）”技术，将从 *Myoplasma mycoeides* 中制备的裸基因组（几乎不含蛋白质）或在酵母中克隆的该细菌的基因组作为供体，移植到 *Myoplasma capricolum* 受体细胞中去，经抗性选择和传代后，得到了基因型和表现型均与供体一致的菌种[8]。

地球上最原始的生命很可能并不遵循 DNA—RNA—蛋白质这一中心法则。Szostak 等提出一个人造原始细胞的大胆构想，其中 RNA 分子既是遗传信息模板，也是催化自我复制的核糖酶（ribozyme），由脂质膜包裹的这种 RNA 分子的生物系统便有可能呈现最原始的细胞特征[9]。实验方面的验证尚未见诸报道，但这一构想引出了一个深刻而有趣的命题，即最简细胞基因组并非是唯一的。不同的生长环境可以支持不同的最简基因组；即便是同一给定的生长环境，最简基因组也可能是含多解乃至无穷多解的一个集合。

毋庸置疑，人造细胞的征程将是一个充满艰辛的探索与发现之旅，它必将揭示分子、纳米尺度的新现象和新原理，发现基因调控、代谢网络等复杂系统的组织规律，乃至改变人们对生命的本质、起源与进化的认识。另一方面，对人造最简细胞添加适当的功能模块，又可使其成为具有重要应用价值的平台。这种细胞平台作为生化反应器，可以高效、高纯度地合成所需物质（如含非天然氨基酸的蛋白质、生物能源物质、药用分子青蒿素等），吸收利用或降解有害物质（如生物固氮、清除温室气体 CO_2），定向输运信号分子（如呈递表面抗原激活人体免疫系统等）。类似的，它也可以被用来设计成具自我更新能力的高敏感、高特异性的生物传感器（biosensor）等。

从科学萌芽时期对生命现象的观察与描述，到以哈维为代表人物的实验生物学的肇始，到电子硅片时代的 *in silico* 生物学的兴起，到如今合成生物学的滥觞，人类在认识、改造和利用生命现象的道路上不断前行。利用这一重要手段设计、合成、组装并最终创造出人造细胞，这类生物体系的各部分结构和功能均界定清楚，能够帮助人们洞悉细胞生命活动的现象、原理和本质，并从中汲取智慧。显而易见，新兴的合成生物学研究方式既不同于还原论生物学（reductionist biology），又有别于系统生物学（systems biology），而三者又相互借鉴、交相辉映，预示着 21 世纪生命科学无限广阔的前景。

参 考 文 献

［1］ Mansy S S，Schrum J P，Krishnamurthy M，et al. Template-directed synthesis of a genetic polymer in a model protocell. Nature，2008，454：122-125
［2］ Chang T M. Semipermeable microcapsules. Science，1964，146：524-525
［3］ 龚岳亭，杜雨苍，黄惟德等．结晶牛胰岛素的全合成．科学通报，1965，10：941
［4］ 王德宝．人工全合成酵母 tRNA-(ala) 的设计思想和经过．生命的化学，1982，2：1-5
［5］ Shimizu Y，Inoue A，Tomari Y，et al. Cell-free translation reconstituted with purified components. Nat Biotechnol，2001，19：751-755
［6］ Murtas G. Artificial assembly of a minimal cell. Mol Biosyst，2009，5：1292-1297
［7］ Forster A C，Church G M. Towards synthesis of a minimal cell. Mol Syst Biol，2006，2：1-10
［8］ Lartigue C，Vashee S，Algire M A，et al. Creating bacterial strains from genomes that have been cloned and engineered in yeast. Science，2009，325：1693-1696
［9］ Szostak J W，Bartel D P，Luisi P L. Synthesizing life. Nature，2001，409：387-390

撰稿人： 程和平
北京大学
审稿人： 段恩奎

细胞如何对代谢过程进行集成管理?

How Are Different Metabolic Processes Integrated in Cells?

细胞内存在着膜系和大量的可溶性大分子，如核酸、酶、结构蛋白等。假如这些成分在细胞内均匀分布，那么细胞质的黏度将会很大，导致各种代谢中间产物在细胞内难以自由扩散，使得多数代谢过程无法进行。而事实却并非如此。因而人们有理由推测，在细胞中这些大分子化合物有可能通过一定的形式结合或垛叠在一起。另一方面，在进化过程中，生物体需要从整体到分子的各个水平上对生命过程进行精确调控，以更好地适应环境。这种大分子的结合或垛叠有可能为细胞提供一种有序高效的集成方式来调控其内部复杂的代谢网络。

最初的证据是 1958 年由 Green 通过对三羧酸循环的研究得到的。这一研究发现参与三羧酸循环的各种酶蛋白相互结合，形成了多酶复合体[1]。1960 年 Zalokar 利用超离心分析脉孢霉菌丝的蛋白组分，发现几乎所有的酶活都与细胞器、膜系或细胞骨架相连，而在真正可溶部分的酶活很少。这一工作再次表明在细胞中很多酶系可能以多酶复合体的形式存在，并说明这些多酶复合体可能是附着在细胞结构组分上，而不是自由分散于胞质中[2]。而几乎同时，Yanofsky 和 Rachmeler 发现色氨酸合成途径的代谢中间物并不向体系外扩散。这表明在代谢过程中，各种酶的活性部位之间可能存在着一个通道。代谢中间物在这个密闭的通道中从一个酶促位点移动到下一个酶促位点，直到反应完成[3]。

随着分子生物学手段的不断发展和 X 射线衍射等理化分析技术的提高，越来越多的研究工作证明，多酶复合体在细胞内是普遍存在的。参与同一代谢过程且彼此之间具有一定蛋白质—蛋白质相互作用的多酶复合体通常称为代谢元（metabolon)。一些结构较为复杂的酶蛋白可能自身就具有多种催化活性，能够独立依次完成代谢途径中的一系列步骤，通常也被视为代谢元的一种特殊形式。

从理论上推测，酶蛋白组成代谢元的一个重要优势是可以形成代谢物通路(metabolic channeling)，便于代谢中间产物在多个酶（或一个酶的多个活性位点）之间迅速传递，以节约反应时间，提高反应速度。此外，代谢中间物聚集在通道内，可能带来另外三方面的优势：①部分酶达到最适酶促活性需要一定的底物浓度。形成代谢物通路可以避免代谢中间物的扩散，以有利于所需浓度的获得。同时，由于在形成代谢元和代谢物通路时，也产生了酶蛋白的聚集，在局部有效地提高了酶的浓度，促进了代谢过程。②部分代谢中间物对细胞具有毒害作用，将其限制在通道内可以有效地避免有毒中间产物对细胞的伤害。③一些代谢中间物

结构并不稳定，易于被环境中的水或其他成分破坏，如发生羟化等。专一的代谢物通路可以避免这些成分的进入。再则，从酶的角度看，形成代谢元和代谢物通路也可以将其活性部位很好地保护在通路内部，使其与细胞内一些抑制因素脱离接触[4]。目前虽然有一些研究工作可以部分支持这些推测，也在类黄酮生物合成等代谢途径中证实了代谢物通路的存在，但是要进一步从机理上加以阐明并发现新的更多的实例，则还有待于大量的生物化学、分子遗传学和结构生物学的工作。

形成代谢元通常需要几个蛋白之间存在相互作用。其中的酶蛋白或者自身就是膜蛋白（如常见的细胞色素 P450 单加氧酶），或者通过可与膜结合的结构蛋白作为“核心”来形成复合体，从而锚定整个代谢元。已经发现的代谢元往往分布于细胞内的某个特定区室（compartment），如叶绿体、线粒体或内质网等的膜系上。但是我们对代谢元的具体组装过程还缺乏了解，也还不清楚代谢物通路在各个蛋白之间是如何构成的。目前发现的代谢物通路可以涉及同一个细胞不同区室之间的多个代谢元，也可以在一个代谢元内形成。相对于在溶质中的自由扩散，代谢物通路具有不可比拟的优势。假如能够深入解析代谢物通路的结构，将可以为后续的代谢工程研究提供明确的技术策略。

除膜蛋白外，一些以往认为在细胞质中由可溶性酶蛋白催化的代谢过程可能也是在一定的亚细胞区室中通过代谢元的形式来完成的，只不过其结构短暂易变，处于频繁的组装和解离的动态平衡之中。或许这些短暂和动态的代谢元的组装本身也是一种有效的调控手段。有结果显示细胞色素 P450 单加氧酶在结合底物之后，其蛋白构象发生变化，从而更易于与它的辅助因子 P450 还原酶相结合[5]。因而有推测认为，当不同代谢途径之间有共同的酶蛋白或者代谢中间物时，细胞可以通过对代谢元结构的转换和代谢物通路的开闭来迅速调节代谢物的流向，以适应环境变化。但是目前还没有很多结果来支持这一推测，而且利用 X 射线衍射的方法来测定这些短暂易变的代谢元的结构较为困难，所得到的结果也容易引起质疑。

由于细胞内环境复杂，既有各种不同的代谢物、代谢途径之间的交互作用，也有各种因素对酶活的影响，所以通过代谢元和代谢物通道对代谢过程的调控能力和调控手段要比一般自由体系中的酶促反应复杂和丰富得多。

以高等植物和衣藻中的卡尔文循环为例（图 1）[6]。这一复合体位于叶绿体的类囊体上，与 ATP 和 NAPDH 的形成位点接近。在复合体的外部分布有碳酸酐酶，可以就近将碳酸盐转化为 CO_2，供 1，5-二磷酸核酮糖羧化/氧化酶（Rubisco）使用。研究工作表明，虽然不同的酶蛋白之间是通过蛋白质-蛋白质相互作用而彼此接近，但相接近的两个酶蛋白却不一定催化连续的两步代谢反应。如磷酸核酮糖激酶（PRK，phosphoribulokinase）和 3-磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH，glyceralde-

hyde-3-phosphate dehydrogenase)，虽然在代谢途径上并不相邻，但是通过它们之间的相互作用却能够调控整个卡尔文循环的活性。目前已知这两个酶都能够形成同源二聚体，也可以由彼此的单体相结合形成一个新的异源二聚体。在异源二聚体的形成中需要一个无酶活的小蛋白 CP12 参与。PRK/CP12/GAPDH 复合体的解聚是存在于不同植物中光活化卡尔文循环的一个保守机制。CP12 的发现也表明，在代谢元中也可以包含一些非酶小蛋白组分。另一些研究则显示，当 PRK 和 GAPDH 结合在复合体上时，它们的酶促活性受到 NADP（H）的调节，而当它们处于游离状态，活性则受到 NAD（H）的调节。由此可见，利用空间结构的变化，代谢元不仅可以通过代谢物通路来提高代谢效率，也可以针对其中某一酶蛋白进行活性和调控方式的转变。

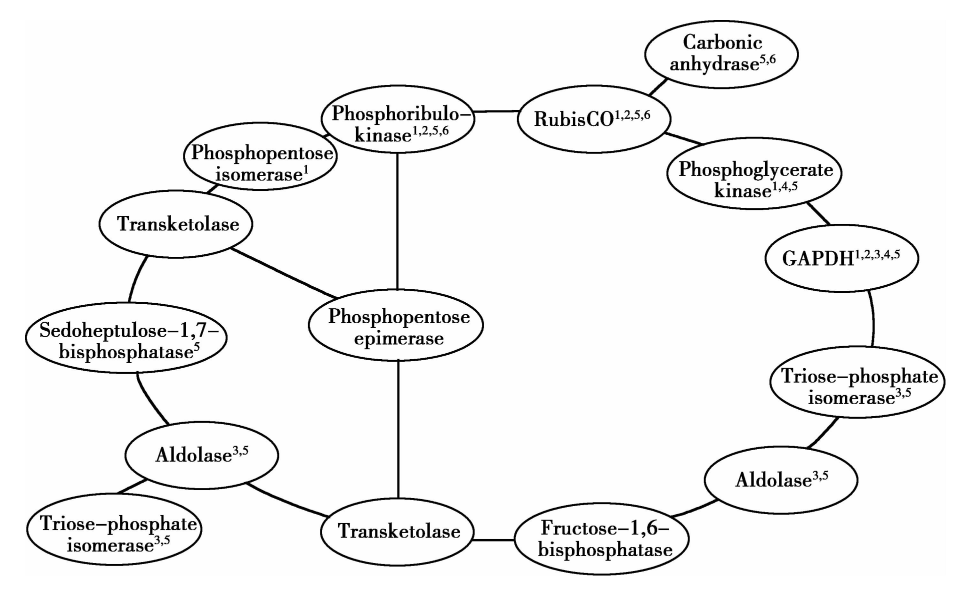


图 1　卡尔文循环

上标显示各蛋白组分在纯化的蛋白复合体中共同存在（1，2，6）、具有蛋白质-蛋白质相互作用（3，4）或共同存在于膜上（5）。其中 PRK、Rubisco 和景天庚酮糖-1，7-二磷酸酶（Sedoheptulose-1，7-bisphosphatase）为卡尔文循环所特有，其他酶也参与糖酵解途径或磷酸戊糖途径。

（根据 Winkel 2004 重绘）

除上述调控特性以外，形成代谢元和代谢物通路还有另外一些独特的调控优势。例如，一些酶蛋白本身具有较低的底物专一性，只有在形成代谢物通路，得到上游代谢过程提供的特定代谢中间物后才能避免酶与非特异底物的结合，保证代谢过程的进行。另一方面，由于代谢元往往依附于某个细胞内的结构组分，细胞也可以通过对这些组分的移动来调节代谢物的具体合成位置。例如，合成植物

中一些防御性化合物的代谢元位于内质网上，但是当植物受到病原菌侵染时，可以通过细胞骨架的运动将这些代谢元整体迁移到病原菌的侵染部位，从而提高防御能力[7]。

从另一个角度考虑，细胞内可能还存在着基因水平的“流水线”。在原核生物中，同一代谢途径的酶基因往往形成基因簇（cluster），代谢调控可在基因簇水平上实现。在高等生物中，类似的发现较少。2008 年 Field 和 Osbourn[8] 报道了在拟南芥的三萜化合物 thalianol 合成途径中，四个重要的酶基因（一个合成酶，两个 P450，以及一个可能与后修饰相关的酶）在基因组上排列在一起（At5g47980、At5g47990、At5g47800、At5g47810），而且在植物的不同组织中有相似的表达谱。从序列分析来看，这一基因簇可能起源于基因组重排以及基因的复制与丢失，而且这一过程似乎发生不久，因为在邻近物种中它们的同源基因并未成簇排列。研究人员推测，由于有利于 thalianol 这一防御性化合物的合成调控，这些基因的成簇排列在进化上可能具有优势。此外，虽然在这四个基因里发现了甲基化位点，但目前还没有证据表明它们的共表达受到表观遗传因素控制，其中的机理还有待于进一步阐明。

成簇的酶或者基因结构可能是细胞代谢网络的重要组成部分，并代表了在进化中形成的集成高效的调控方式。但是迄今为止我们对此还了解甚少。多数研究工作还只是从少数物种（尤其是原核生物）的部分代谢途径中管窥可能的作用机制。一些重要问题，如代谢元中各蛋白成分之间的相互关系及其组装过程的调控、代谢物通路的结构预测与实验解析、非稳定代谢元的功能与调控、构成代谢途径的各酶基因在进化中形成的成簇排列与表观遗传调控、以及如何对代谢元和代谢物通路加以改造，既有非常重要的科学意义，也有重要的应用价值。而回答这些问题需要分子生物学、结构生物学和计算生物学的交叉整合。

参 考 文 献

［1］ Green D E. Studies in organized enzyme systems. Harvey Lect.，1958，52：177-227

［2］ Zalokar M. Cytochemistry of centrifuged hyphae of *Neurospora*. Exp. Cell Res.，1960，19：114-132

［3］ Yanofsky C，Rachmeler M. The exclusion of free indole as an intermediate in the biosynthesis of tryptophan in *Neurospora crassa*. Biochem. Biophys. Acta.，1958，28：640-641

［4］ Jorgensen K，Rasmussen A V，Morant M，et al. Metabolon formation and metabolic channeling in the biosynthesis of plant natural products. Curr. Opin. Plant Biol.，2005，8：280-291

［5］ Ortiz de Montellano P R. Cytochrome P450：Structure，Mechanism and Biochemistry. Kluwer Academic，Springer，2005，115-148

［6］ Winkel B S J. Metabolic channeling in plants. Annu. Rev. Plant Biol.，2004，55：85-107

［7］ Chuong S D X，Good A G，Taylor G J，et al. Large-scale identification of tubulin-binding proteins provides insight on subcellular trafficking，metabolic channelling and signalling in plant cells. Mol. Cell Proteomics，2004，3：970-983

［8］ Field B，Osbourn A E. Metabolic diversification- Independent assembly of operon-like gene clusters in different plants. Science，2008，320：543-547

撰稿人：[1] 卢　山　[2] 陈晓亚

1 南京大学

2 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所

审稿人： 王克夷

糖复合物中聚糖蕴藏着大量的生物信息吗?

Do Glycans in Complex Carbohydrates
Contain Tremendous Biological Information?

生物体内的大分子——聚糖（glycan）已被认为是继蛋白质和核酸后的又一蓬勃发展的研究领域。聚糖的糖链结构与功能之间的关系研究备受科学家的重视。发挥重要生物学功能的聚糖常与非糖的大分子如蛋白质、脂类等通过共价键结合形成复合物，这类糖复合物（glycoconjugates）或复合糖类（complex carbohydrates）包括糖蛋白、蛋白聚糖、糖脂、脂多糖等，还有糖、脂、蛋白质三者分子共同参与组成的糖复合物。

大多数真核细胞都能合成一定量和不同类型的糖蛋白和蛋白聚糖，它们主要分布于细胞表面、细胞内分泌颗粒和细胞核内，也可被分泌出细胞，其中部分参与组成细胞外基质成分。尽管糖蛋白和蛋白聚糖都由蛋白质和聚糖两部分组成，但两者的糖基种类、含量以及连接方式都不相同。糖蛋白分子中蛋白质重量百分比大于聚糖，而蛋白聚糖中聚糖所占重量在一半以上，甚至高达 95%，以致大多数蛋白聚糖中聚糖的分子质量高达 10 万以上。糖蛋白分子中的含糖量因蛋白质不同而高低不一，有的可达 20%，有的仅为 5%以下。此外，糖蛋白分子中单糖种类和组成比、聚糖的结构也存在差异显著。组成糖蛋白分子中聚糖的主要单糖有 7 种：葡萄糖、半乳糖、甘露糖、*N*-乙酰半乳糖胺、*N*-乙酰葡糖胺、L-岩藻糖（fucose，Fuc）和唾液酸。糖蛋白聚糖有 *N*-连接聚糖（*N*-linked glycan）和 *O*-连接聚糖(*O*-linked glycan）之分。*N*-连接聚糖是指与蛋白质分子中天冬酰胺残基的酰胺氮相连的糖链；而 *O*-连接聚糖是指与蛋白质分子中丝氨酸或苏氨酸羟基相连的糖链。*N*-连接聚糖和 *O*-连接聚糖的结构也不相同。糖蛋白除 *N*-连接聚糖修饰和 *O*-连接聚糖修饰外，还有一种单个糖基修饰，即 β-*N*-乙酰氨基葡萄糖（β-*N*-acetylglucosamine，*O*-GlcNAc)糖基化修饰，主要发生于膜蛋白和分泌蛋白[1]。此外，真核生物中的糖脂，如鞘糖脂、甘油糖脂都是组成细胞膜的重要成分。属于鞘糖脂类的神经节苷主要分布于神经系统，神经末梢含量尤为丰富，在神经冲动的传递中起重要作用。

聚糖的生物学功能正被科学家逐渐揭示。已有大量研究结果表明，聚糖参与了细胞识别、细胞黏附、细胞分化、免疫识别、细胞信号转导、微生物致病过程和肿瘤转移过程等[2,3]。越来越多的证据表明，特异的聚糖结构被细胞用来编码若干重要信息。在细胞内，已发现糖蛋白在初始合成至最后亚细胞定位并发挥作用的各个阶段，其聚糖均参与并对其加以影响。如糖蛋白中的聚糖可保护蛋白质免受蛋白酶

水解，以延长糖蛋白半衰期；不少糖蛋白的 N-连接聚糖参与新生肽链的折叠并维持蛋白质正确的空间构象；聚糖对糖蛋白在细胞内的分拣、投送和分泌各阶段均发挥一定的作用；具有功能的糖蛋白的二聚体，往往依靠糖—蛋白质或糖—糖相互作用维系亚基的聚合和构象等[4,5]。

在如此广泛的生物学活性中发挥重要作用的聚糖，必定有其微妙独特的结构特征作为其发挥作用的分子基础。以往研究已证实，聚糖结构具有多样性和复杂性，这赋予其具有携带大量生物信息的能力。就目前研究所知，聚糖所携带的生物信息，可表现为诸如细胞间通讯 、蛋白质折叠 、细胞黏附和免疫识别等[5,6]。这与聚糖复杂的空间结构之间存在一定的规律，但携带生物信息的详细方式、表现形式以及传递途径等知之甚少[7]。

在研究聚糖生物学功能的同时，对其分子结构的研究也不断发展。现代先进技术分析获得的寡糖和聚糖结构，揭示了糖蛋白中聚糖结构的复杂性与多样性。糖复合物中的各种聚糖结构存在单糖种类、化学键连接方式及分支异构体的差异，形成千变万化的聚糖空间结构，其复杂程度远高于核酸或蛋白质结构。已知的哺乳动物单糖种类是有限的，但由于单糖连接方式与修饰方式的差异，使存在于聚糖中的单糖结构不计其数，如 2 个相同已糖的连接就有 α1，2；α1，3；α1，4；α1，6；β1，2；β1，3；β1，4；β1，6 等方式，加之聚糖中的单糖还可以进一步的被修饰，如甲基化、硫酸化、乙酰化、磷酸化等。从理论上计算，组成糖复合物中聚糖的六糖结构就达 10^{12}种之多，尽管并非所有的结构都天然存在，但目前已知糖蛋白 N-聚糖中的己糖结构已有 2000 种之多。如进一步分析聚糖分子中糖基序列的多样性，聚糖所蕴藏的信息量之大就略见一斑了。在聚糖结构中可有 20 种不同的单糖，据此可推算出存在 1.44×10^{15} 个不同结构的六聚糖（hexameric oligosaccharides）的可能性，而 20 种氨基酸形成六肽，仅有 6.4×10^{7}种可能的六肽；4 种单核苷酸，仅有形成 4096 种含 6 个单核苷酸的多核苷酸的可能性[8,9]。与此同时，随着聚糖结构研究的不断深入，高通量的糖组学（glycomics）与功能糖组学（functional glycomics）的技术也不断完善[10]。

正由于聚糖空间结构具有如此多样性，所含信息量无比巨大，因此不仅可与核酸相媲美，而且在相同质量所含信息密度上，远远超越核酸。每一聚糖都有一个独特的能被蛋白质阅读并与蛋白质（如凝集素等）相结合的三维空间构象，这就是现代糖生物学家假定的糖密码（glycocode，sugar code）。如果真的存在着糖密码的话，那么糖密码是如何产生的，即其上游（分子）又是何物呢？目前对此仍知之甚微，因此，这是糖生物学研究领域极具挑战性的课题[7-9]。

已知构成聚糖的单糖种类与单糖序列是特定的，即存在于同一糖蛋白同一糖基化位点的聚糖结构通常是相同的。这为“糖蛋白中聚糖合成规律可能有糖密码控制”这一假设提供了线索。科学家们已基本阐明了糖复合物中聚糖的生物合成过程，包括

糖基供体、合成所需酶类、合成的亚细胞部位、合成的基本过程等。从中得知聚糖的合成受基因编码的糖基转移酶和糖苷酶调控。糖基转移酶的种类繁多，已被克隆的糖基转移酶就多达130余种，其主要分布于内质网或高尔基体，参与聚糖的生物合成。

除了受糖基转移酶和糖苷酶调控外，若干研究提示聚糖结构可能还受其他因素影响与调控。由于糖复合物中聚糖是与通过共价键与蛋白质、脂等部分相连，因此聚糖的合成势必受到糖基化位点周围蛋白质或脂质空间结构的影响；糖蛋白中聚糖还存在不均一性，即相同糖蛋白的同一糖基化位点的聚糖结构可以不相同；糖蛋白的聚糖结构具有组织与细胞特异性，可能与各组织、细胞中糖基转移酶和糖苷酶种类与活性不同有关。因此，科学家充分认识到，“糖密码”所涉及内容比糖基转移酶和糖苷酶调控聚糖结构更为复杂，使“糖密码”的研究之路更加艰难而任重道远。

参 考 文 献

[1] Hart G W. Dynamic *O*-linked glycosylation of nuclear and cytoskeletal proteins. Annu Rev Biochem.，1997，66：315-335

[2] Zhao Y Y，Takahashi M，Gu J G，et al. Functional roles of *N*-glycans in cell signaling and cell adhesion in cancer. Cancer Sci.，2008，99（7）：1304-1310

[3] Zhao Y，Sato Y，Isaji T，et al. Branched *N*-glycans regulate the biological functions of integrins and cadherins. FEBS J.，2008，275（9）：1939-1948

[4] Tian E，Ten Hagen K G. Recent insights into the biological roles of mucin-type *O*-glycosylation. Glycoconj J.，2009，26（3）：325-334

[5] Helenius A，Aebi M. Roles of *N*-linked glycans in the endoplasmic reticulum. Annu Rev Biochem.，2004，73：1019-1049

[6] Parodi A J. Protein glucosylation and its role in protein folding. Annu Rev Biochem.，2000，69：69-93

[7] von der Lieth C W，Bohne-Lang A，Lohmann K K，et al. Bioinformatics for glycomics：status，methods，requirements and perspectives. Brief Bioinform.，2004，5（2）：164-178

[8] Chay C H，Pienta K J. Evidence for lectin signaling to the nuclear matrix：cellular interpretation of the glycocode. J Cell Biochem Suppl.，2000，Suppl 35：123-129

[9] Ambrosi M，Cameron N R，Davis B G. Lectins：tools for the molecular understanding of the glycocode. Org Biomol Chem.，2005，3（9）：1593-1608

[10] Kondo A，Li W，Nakagawa T，et al. From glycomics to functional glycomics of sugar chains：Identification of target proteins with functional changes using gene targeting mice and knock down cells of FUT8 as examples. Biochim Biophys Acta.，2006，1764（12）：1881-1889

撰稿人：查锡良

复旦大学

审稿人：王克夷

如何做到实时可视化检测细胞内 ROS?

How to Visualize Intracellular ROS Dynamics?

活性氧（reactive oxygen species，ROS）是一类氧的单电子还原产物，包括以自由基和非自由基形式存在的具有高活性的中间产物，如激发态的氧分子——单线态氧（$^1O_2$），含氧的自由基——超氧自由基（$O_2\cdot^-$）、羟自由基（$\cdot OH$），过氧化物——过氧化氢（H_2O_2）、过氧化脂质（ROOH），以及含氯或氮的氧化物（OCl^-，NO）等。NO 也属于活性氮化合物（reactive nitrogen species，RNS）之一。

ROS 研究大致可分为三个阶段。1956 年 Denham Harman 等通过酶促反应发现 ROS，并进一步发现 ROS 可以引起多种氧化损伤，提出 ROS 可能是酶促反应的副产物的理论[1]；1969 年 McCord 与 Fridovich 发现超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD），证明生物体内存在 ROS 的清除机制[2]，这一时期大量研究了 ROS 对 DNA、蛋白质、脂质和其他成分的损伤；1977 年 Mittal 与 Murard 发现 O_2^- 通过其衍生物 $\cdot OH$ 刺激第二信使 cGMP 的生成[3]，揭开了 ROS 生理学功能研究的序幕，而 NO 作为第一个已知的内源性气体信号分子的研究获 1998 年诺贝尔生理学或医学奖。

越来越多的证据表明，ROS 与细胞信号通路调节、应激反应、衰老、凋亡以及多种疾病相关。作为第二信使，ROS 可直接激活多种蛋白激酶（如 CaMKⅡ、PKC）和磷酸酶，也可通过修饰转录因子（如 HIF-1）调控基因的表达。在复杂疾病中，ROS 在不同病程阶段往往起到“双刃剑”作用，如最新研究表明缺失了 ROS 清除酶——Gpx1 的小鼠能够显著减低高脂饮食诱导的胰岛素抵抗[4]，提示 ROS 提高胰岛素敏感性；另一方面，ROS 超量生成又被公认为Ⅱ型糖尿病的重要病理因素。ROS 在免疫反应中也担当着重要的作用，不仅可以直接杀死病原微生物，还可以改变细胞内氧化还原状态激活特异性免疫。

无论是生理功能还是损伤效应，ROS 作用依赖于其在细胞中的种类、浓度和定位。现有的 ROS 检测方法主要有电子自旋共振法、高效液相色谱法、化学发光法、荧光光度法等，其中，荧光探针结合高分辨力的显微成像技术是目前唯一能够应用于细胞水平的“实时、可视”的 ROS 检测方法。设计新型分子探针，实时、可视化地观察多种 ROS 在细胞中的浓度、分布及其变化是 ROS 研究的一个热点和难点，也是大有可为的一个研究方向。

理想的 ROS 分子探针应该具备以下四个特性：实时性、选择性、定量检测以

及亚细胞定位能力，而这同时也是设计探针过程中的四大难点。另外，由于涉及细胞内的反应，设计合成时还需要考虑分子探针在水和脂质环境下的稳定性、透过细胞膜的能力、细胞自发荧光的干扰以及对细胞的毒性等。

实时性　细胞 ROS 主要产生方式之一，是在线粒体电子传递的过程中，部分泄漏的电子使氧分子仅接受一个电子，生成 $O_2\cdot^-$。这一反应主要发生在线粒体内膜呼吸链酶系上，特别是 NADH-辅酶 Q 还原酶（Complex Ⅰ）处。线粒体基质中的 $O_2\cdot^-$在过氧化物歧化酶 MnSOD 的作用下迅速转化生成 H_2O_2，部分 H_2O_2 与 Fe（Ⅱ）经 Haber-Weiss 循环生成 ·OH。在一些细胞内（如嗜中性白细胞），H_2O_2还与 Cl^- 在 MPO 催化下反应生成 OCl^-，进一步生成$^1O_2$ 及其他种类的含氯 ROS（图 1）。除 H_2O_2较稳定外，各类 ROS 的生命期非常短（$^1O_2$ 为 2μs，· OH 为 200μs），并且稳态浓度很低。这就要求分子探针在具有高检测灵敏度的同时，还具有与 ROS 反应的良好的动力学特征。一个值得探讨的设想是，是否可借鉴血红蛋白氧合原理设计以异构反应与 ROS 可逆结合的分子探针？

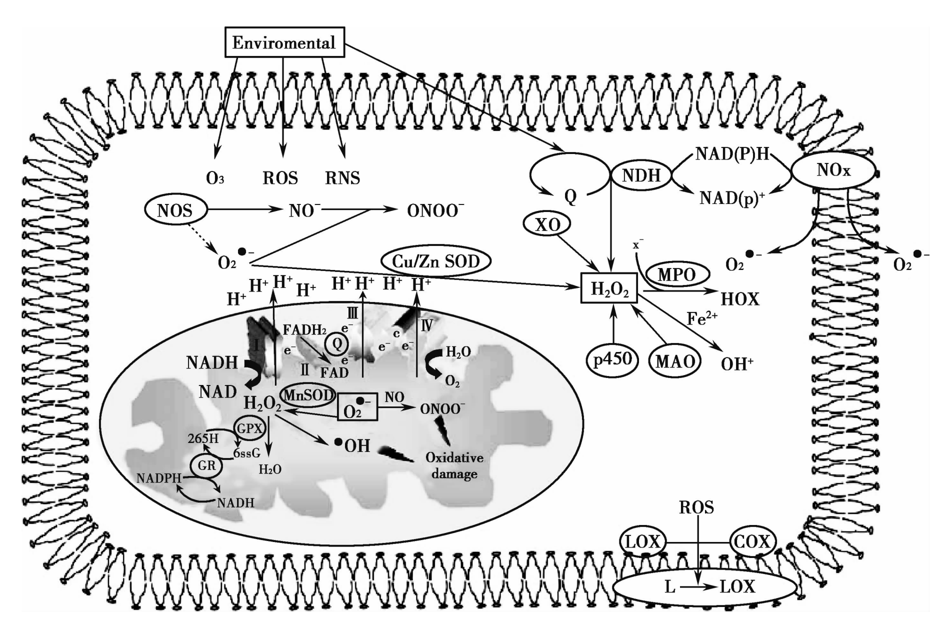


图 1　细胞内 ROS 主要的生成和代谢途径[5]

选择性　有别于其他类型的第二信使（Ca^{2+}、cAMP、cGMP、IP_3），细胞内 ROS 是一个庞大的家族，不同的 ROS 有着重叠但不尽相同的下游靶点，如 H_2O_2 可以特异激活原核生物中的 OxyR 转录因子，启动下游一系列氧化应激的基因表达。现在常用的一类 ROS 分子探针利用了被 ROS 氧化脱氢生成荧光产物的机制，如 HE、DCFH 及其衍生物、DHR、Amplex Red、3-CCA /SECCA、TA 等，这

类探针往往被多种 ROS 氧化产生荧光，并且易与激发光反应而产生新的 ROS。迫切需要具有高特异性的新一代 ROS 探针，仅识别一种或者一类活性氧分子，并且不易受激发光和细胞内 pH 变化等的影响。

定量检测　ROS 的浓度变化决定了其不同的生物学功能，正常生理浓度的 ROS 具有信号分子的作用，较高浓度 ROS 可引起细胞凋亡，而更高浓度则导致细胞坏死。因此，定量检测细胞内 ROS 具有重要的意义。应用荧光探针的荧光比率测量（ratiometrics）原理可能是实现 ROS 定量测量的一个途径。

亚细胞定位　在真核生物细胞内，线粒体内膜呼吸链是主要的 ROS 生成位点，但线粒体外膜细胞色素 b5 还原酶、单胺氧化酶、双氢乳清酸酯脱氢酶等，质膜的 NADPH 氧化酶，细胞质细胞色素 P450 氧化还原酶，黄嘌呤氧化酶以及其他细胞器中的酶系也可生成 ROS。亚细胞 ROS 还可以通过"ROS 诱导 ROS 生成"的形式产生细胞内 ROS 波（ROS wave）等丰富的时空结构。与此相应，分子探针精确的亚细胞定位是研究局域 ROS 信号（local ROS signaling）的一个重要前提。

最近出现的蛋白质类 ROS 探针成功实现了探针在亚细胞水平的准确定位，从而使实时检测细胞器水平 ROS，特别是其主要产生部位——线粒体内的 ROS 成为可能。Wang 等报道 cpYFP 可以特异指示线粒体基质 $O2^{\cdot -}$，并且发现了线粒体超氧炫（superoxide flash）现象[6]（图 2）。此外，Vsevolod 等利用 cpYFP 结构和原核生物 H_2O_2 敏感蛋白 OxyR，合成了一个新的基因编码的 H_2O_2 荧光探针 HyPer，可以定位于细胞质或线粒体内[7]。ROS 检测的一个重要发展方向，就是如何进一步丰富蛋白质类 ROS 探针，提高该类探针敏感性和选择性。

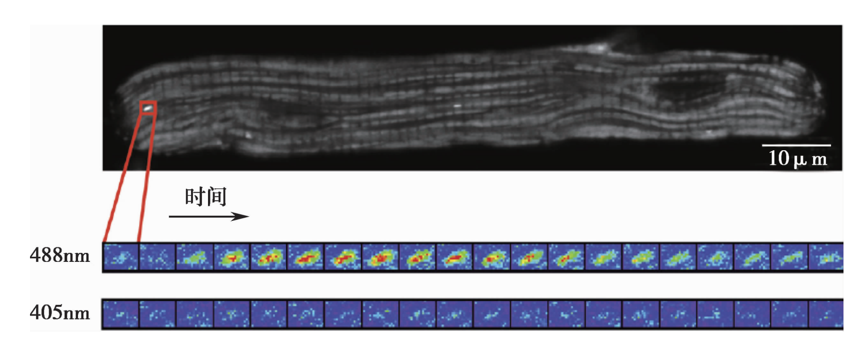


图 2　使用 cpYFP 探针检测大鼠心肌细胞单个线粒体中的超氧炫

上图：在厚约 2μm 共聚焦光学断层中，约 800 个线粒体排列成束状，cpYFP 在线粒体基质中表达。下图：单个线粒体超氧炫时序图，每帧 1.5 秒。cpYFP 在波长 488nm 激光激发下的荧光增强指示线粒体中存在时程为 10s～20s 的 O_2^- 爆发现象。而 405nm 激发光下的荧光值保持不变，提示 cpYFP 是适用于比率测量的荧光染料

总之，确定 ROS 的生成位点、作用靶点、信号机制需要发展新的物理、化学、生物学检测手段。设计合成选择性好、灵敏度高，能够在细胞内准确定位、定量反应的探针，特别是通过异构反应能与 ROS 可逆结合，具有生物兼容性的红外、近红外荧光探针无疑是具有挑战性的前沿课题之一。

参 考 文 献

［1］ Harman D. Aging：a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol.，1956，11（3）：298-300

［2］ Mccord J M，Fridovich I. Superoxide dismutase：an enzymic function for erythrocuprein（hemocuprein）. J Biol Chem，1969，244（22）：6049-6055

［3］ Mittal C K，Murad F. Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical：a physiological regulator of guanosine 3′，5′-monophosphate formation. Proc Natl Acad Sci USA，1977，74（10）：4360-4364

［4］ Kim L，Deng H，Fukushima A，et al. Reactive oxygen species enhance insulin sensitivity. Cell Metabolism，2009，10（4）：260-272

［5］ Victor V M，Rocha M. Targeting antioxidants to mitochondria：a potential new therapeutic strategy for cardiovascular diseases. Curr Pharm Des，2007，13（8）：845-863

［6］ Wang W，Fang H，Groom L，et al. Superoxide flashes in single mitochondria. Cell，2008，134：279-290

［7］ Belousov V V，Fradkov A F，Lukyanov K A，et al. Genetically encoded fluorescent indicator for intracellular hydrogen peroxide. Nat Methods，2006，3（4）：281-286

撰稿人：程和平　侯婷婷

北京大学

审稿人：段恩奎

蛋白质结构预测为何仍难尽人意?

Why Is the Accuracy of Protein Structure Prediction Unsatisfactory?

蛋白质三维结构决定其功能；了解蛋白质三维结构可以深入理解我们生命现象和疾病发生和防治的分子机理。随着大规模基因组测序和蛋白质组学的发展，系统地了解蛋白质的结构与功能已经成为现代生命科学研究的主题。蛋白质的三维结构的测定主要是利用X射线衍射、核磁共振（NMR）等实验技术。通过实验手段测定蛋白质三维结构非常耗时耗力，到目前为止，自然界只有少数蛋白质的结构得到测定。因此，从蛋白质的氨基酸序列出发快速预测其三维结构也成为了解蛋白质结构与功能的重要手段。1973年，Anfinsen证明蛋白质的氨基酸序列本身可以决定其三维结构[1]。从此，一些人开始致力于蛋白质结构的从头（*de novo*）预测，即搜索蛋白质最低自由能的构象[2,3]。由于蛋白质结构体系的复杂性，从头预测一直未取得很好的突破。随着实验测定的蛋白质结构日益增多，20世纪70年代末一种新的结构预测方法，基于模板的结构预测开始兴起。其代表方法就是同源建模（homology modeling）和折叠识别或穿珠法（threading）[4]。90年代末，美国西雅图华盛顿大学的Baker教授实验室在从头预测的思想上融合局部片段模板提出了用片段组装思路进行结构预测[5,6]。

但是，从近几届全球蛋白质结构预测比赛（CASP）的结果来看，蛋白质结构预测的方法还很不成熟，远远没有达到可以精细解释功能的准确度。特别地，目前看来，蛋白质结构预测的方法似乎都已经进入了一个发展的瓶颈期，几乎没有什么突破性的进展。从头预测方法在部分小蛋白的折叠模拟上取得了成功，但一直难以推广到较大的蛋白质结构预测上。片段组装的方法也只对部分小蛋白进行了成功的预测，对大部分蛋白质（特别是较大蛋白质和β型蛋白质）还难以预测出可信的主链拓扑模型。折叠识别和同源模建逐渐地合并成了同一种方法——比较模建法（comparative modeling），成为蛋白质结构基因组计划中计算模建部分的支柱。但由于它强烈依赖于已经测定的结构，对许多新型结构的蛋白质预测无能为力[7]。

为什么会出现这样的发展瓶颈，关键的制约因素在哪里?

同源建模方法的本质是在已有的结构库中寻找与目标蛋白在进化上具有同源性的模板，再基于模板结构进行优化来模建目标结构。其代表软件Modeller[8]、SWISS-MODEL[9]已被实验生物学家广泛应用。这种方法对于具有高同源性的蛋白质有较好的预测准确度，但对低同源性模板的蛋白质无能为力。

折叠识别方法的本质是首先确定蛋白质结构的折叠子空间，然后将目标蛋白序列串到每个折叠子上，对其匹配的程度进行评估，找出最合适的折叠子，再基于折叠子的结构进行优化来模建目标结构。这种方法可以适用于较低同源性的蛋白。但折叠识别方法主要决定于发展一个有效评估目标序列和折叠子的匹配程度的评分函数。目前，发展这样的评分函数还很困难[10,11]。

从头预测的方法不依赖于是否具有同源模板，具有很好的普适性。Baker 实验室发展的 Rosetta 是这一方法的代表，Rosetta 算法的基本原理是模仿蛋白质结构形成中局部作用和远程作用相互影响的过程。局部作用通过片段模板库定义出其空间，远程作用通过打分函数来捕捉[6]。所以这一方法中有三个关键问题：一是局部片段模板库的质量；二是捕捉远程作用的打分函数；三是整体拓扑的采样策略。尽管在这三个问题上，Rosetta 都做了细致的考虑，但是因为问题的复杂性，这三个问题还没有很好的解决，所以 Rosetta 仅仅在部分蛋白质的结构预测上取得了成功。目前认为，从头预测方法主要问题是构象搜索空间太大，缺少快速而又准确的打分函数，所以整体预测的准确度很低，仅对少部分蛋白质有很好的预测效果。但是对于新型结构蛋白和同源性非常低的蛋白质，从头预测方法的预测效果远好于其他两种方法[12]。

以上方法尽管在实现思想、实现细节和预期目标各有侧重，但在问题处理思路上其实基本相同，即都是把结构预测的问题转化为从无数可能的构象中找到最合理的结构或天然结构。因此，从氨基酸序列出发预测蛋白的结构的核心问题可以归纳为：①如何建立一套有效的构象评分函数，使之能区分出最合理的结构或天然结构；②如何发展一个有效的构象空间搜索算法，能在有限的时间内从大量的噪声构象中找出目标构象。目前，这些问题都没有很好的答案。

参 考 文 献

[1] Anfinsen C B. Principles that govern the folding of protein chains. Science，1973，181：223-230

[2] Levitt M，Warshel A. Computer simulation of protein folding. Nature，1975，253：694-698

[3] Levitt M. A simplified representation of protein conformations for rapid simulation of protein folding. J. Mol. Biol，1976，104：59-107

[4] Greer J. Comparative model-building of the mammalian serine proteases. J Mol Biol，1981，153（4）：1027-1042

[5] Simons K T，Kooperberg C，Huang E，et al. Assembly of protein tertiary structures from fragments with similar local sequences using simulated annealing and Bayesian scoring functions. J. Mol. Biol.，1997，268（1）：209-225

[6] Rohl C A，Strauss C E，Misura K M，et al. Protein structure prediction using Rosetta. Methods

Enzymol，2004，383：66-93

[7] Petrey D，Honig B. Protein structure prediction：inroads to biology. Mol Cell，2005，20(6)：811-819

[8] Eswar N，Marti-Renom M A，Webb B，et al. Comparative Protein Structure Modeling With MODELLER. Current Protocols in Bioinformatics，John Wiley & Sons，Inc，2006

[9] Arnold K，Bordoli L，Kopp J，et al. The SWISS-MODEL Workspace：A web-based environment for protein structure homology modelling. Bioinformatics，2006，22：195-201

[10] Yang Z. Protein structure prediction：when is it useful? Current Opinion in Structural Biology，2009，19：145-155

[11] Roy A，Kucukural A，Zhang Y. I-TASSER：a unified platform for automated protein structure and function prediction. Nat Protoc.，2010，5 (4)：725-738

[12] Das R，Baker D. Macromolecular modeling with rosetta. Annu. Rev. Biochem.，2008，77：363-382

撰稿人：蒋太交

中国科学院生物物理研究所

审稿人：陈润生

基因调控网络如何应对噪声?

How Gene Regulatory Networks Function Against Noise?

基因表达是 DNA 通过转录和翻译生成蛋白质的基本生命过程。基因之间通过 RNA 或蛋白质产物的相互作用以形成复杂的调控网络，从分子水平上影响着细胞的绝大多数功能。由于基因表达过程是在亚细胞尺度下进行的，参与转录和翻译过程的生物分子数目可以很少，噪声的影响十分显著，使得即使在相同的环境下，基因表达的结果也会出现明显差异。但是，细胞分裂、信号传导、生理节律等许多过程是需要精确调控的，因此一个十分重要的问题是：细胞是如何在如此“嘈杂”的环境中实现有序功能行为的呢？是因为基因之间的复杂相互调控抑制了基因表达过程中的噪声吗？基因调控网络的拓扑结构中是否蕴含着有效“应对”噪声的神秘功能单元呢？

为了回答这些问题，首先要对基因调控网络的噪声特性有深入的了解，近年来研究人员对此进行了大量的理论和实验研究[1~4]。一般地，基因表达噪声常用产物蛋白质浓度的方差因子来表示，它定义为蛋白质浓度的标准偏差除以平均值。实验中，研究人员通过合成生物学的技术构建简单的基因调控网络，并采用荧光标记的方法测量产物蛋白质的噪声大小，可以定性甚至定量地分析基因表达噪声的来源与特性。根据来源的不同，可以将噪声分为两类：即使在相同的细胞环境中，同一基因的两次表达也会有差异，这种差异是由化学反应的随机性决定的，是“内噪声”；而由不同的细胞环境带来的噪声，会以相同的方式影响同一基因的两次表达，是“外噪声”。外噪声是可以外在调控的，它与转录和反应的动力学过程无关，而内噪声是化学反应的内禀性质，是由基因调控网络的结构和动力学参数决定的，有规律可循。研究表明翻译过程中蛋白质分子的“随机迸发”式产生是内噪声的主要来源，哈佛大学的研究人员利用先进的单分子实验技术，可以实时观测到这种迸发过程。在原核生物的单基因表达过程中，内噪声完全是由翻译过程决定的，而在真核生物中，转录过程也有重要的调控作用。内噪声可以在基因网络中传递，负反馈往往可以有效抑制内噪声等。理论上，基因表达可以看成是马尔科夫随机过程，它的行为可以用化学主方程来描述。对于简单的基因调控网络，可以通过求解主方程得到目标基因噪声的解析表达式，可以很好地解释合成生物学的实验结果，并且能给出更多的预言[5,6]。然而由于实验技术的限制，人们还很难用合成生物学的方法搭建复杂的基因网络，而理论上对复杂基因网络也很难解析求解，因此目前的实验和理论研究大多局限于包含少数基因的简单调控单元，对复杂基因网络中内噪声的特

性和控制机理还没有规律性的认识。

细胞内许多高度有组织的功能行为，在分子水平上是由基因表达过程调控的。例如，一个时钟基因在细胞质内的表达产物蛋白，转运到核内后反过来抑制该时钟基因的转录，就构成了人类 24 小时生理节律振荡的中心机制之一。一方面生理节律要求足够的精确性，另一方面基因表达过程有显著的内噪声，这二者看似形成了一对不可调和的矛盾。一段时期内，能否有效地“抵制”内噪声，已成为人们选择和判定一个生理节律机理是否正确的重要标准[7]。近年来，人们通过合成生物学的方法已经可以得到较稳定的可调谐的基因振荡网络[8]。实验研究表明，即便是在内噪声很大的情况下，仍然能够观察到稳定的振荡，只不过振荡不是十分规则，这和主方程动力学蒙特卡洛模拟的结果是相一致的。人们普遍认为，基因振荡网络中必不可少的负反馈对抵制内噪声起到了关键的作用。

然而，细胞体系中的内噪声总是需要被抵制吗？细胞工作在一个如此充满了噪声的环境中，难道没有学会在噪声中生存，甚至是合理利用噪声吗？实际上，在非线性科学领域，人们早就认识到噪声可以起到与人们直觉相反的积极作用。例如，在体系发生相变的临界点附近，噪声可以诱导体系从一个稳定态跃迁到另一个稳定态，也可以诱导体系产生新的状态。在双稳体系中，噪声可以放大输入的外界弱信号，并且在合适的噪声强度下，输出信号的信噪比会达到明显的极大值，从而实现了对弱信号的检测和放大，这就是著名的“随机共振”现象[9]。随机共振现象自提出以来，在科学研究的各个领域都受到了重视，在生物体系中也得到了大量应用。实际上，理论分析和随机模拟都表明，在体系参数位于靠近振荡区的边缘时，内噪声完全可以诱导生理振荡的产生。因此，我们是否可以改变观念：基因层次的噪声和细胞层次之间的有序功能并非不可调和的矛盾，而是从基因调控网络到细胞，都已经通过长久的进化而学会了如何“利用”噪声，并工作在最佳状态呢？这当然是一个大胆的假设，需要进一步大量的实验和理论研究来证实。

总体说来，虽然现阶段人们对基因表达过程中的噪声来源、特性和控制因素等进行了大量研究，但对于复杂基因网络有效应对，乃至利用噪声以实现细胞以上层次有序功能行为的机制，仍然缺乏统一的规律性认识，这也是当今系统生物学面临的重要挑战性科学问题之一。相信随着合成生物学技术的进步和复杂性科学理论的发展，这些问题最终会有令人满意的答案。

参 考 文 献

[1] Thattai M，Van Oudenaarden A. Intrinsic noise in gene regulatory networks. Proc. Natl. Acad. Sci. USA，2001，98 (15)：8614

[2] Rao C V，Wolf D M，Arkin A P. Control，exploitation，and tolerance of intracellular noise. Nature，2002，420：231

[3] Raser J M，O' Shea E K. Noise in gene expression：origins，consequences and control. Science，2005，309：2010-2013
[4] Kaern M. Elston T C. Blake W J，et al. Stochasticity in gene expression：from theories to phenotypes. Nature Review Genetics，2005，6：451
[5] Paulsson J. Summing up the noise in gene networks. Nature，2004，427：415
[6] Pedraza J M，Paulsson J. Effects of Molecular memory and bursting on fluctuations in gene expression. Science，2008，319：339
[7] Stricker J. Cookson S. Bennett M R. et al. A fast，robust and tunable synthetic gene oscillator. Nature，2008，456：516
[8] Vilar J M，Kueh H Y，Barkai N，et al，Mechanism of noise-resistance in genetic oscillators. Proc. Natl. Acad. Sci. USA，2001，99：5988
[9] McDonnell M D，Abbott D. What is stochastic resonance? Definitions，misconceptions，debates，and its relevance to biology，PLos Comp. Bio.，2009，5：e1000348

撰稿人：侯中怀
中国科学技术大学
审稿人：陈润生

如何通过网络模型构建实现复杂表型的可预测性和可控制性?

How to Predict and Control Complex Phenotypes Through Network Modeling?

对于与我们关系密切的许多常见疾病和生物学性状，如高血压、冠心病、肥胖、糖尿病、精神病、作物产量和质量等，都不遵循简单的孟德尔遗传，而是属于多基因复杂性状或表型，其中每个单一基因的变异对于复杂性状是微效的，因此基因和表型之间的关系远不如单基因或主效基因的明显，因而研究进展不大。

研究基因型与表型关系的经典方法是通过遗传分析和关联以及连锁分析。然而，对于复杂表型来说，这些方法变得不足，因为复杂的表型不是由于一个基因突变导致，而是由许多不同性状位点或基因通过它们和发育因素、环境因素相互作用所产生的综合弱效[1]。研究表明，心血管疾病、代谢综合征、风湿、哮喘、抑郁症、阿尔茨海默病、精神分裂症和各种癌症等已被认为具有明显的家族遗传倾向，且成因复杂，受到遗传背景与环境因素的共同作用。也正是因此，对复杂性状疾病易感基因研究的难度要比单基因疾病大得多。仅靠经典的关联以及连锁分析的结果通常假阴性与假阳性率极高，不仅得到的候选基因大多而且与上百个基因的染色体大片段连锁[2,3]，最为棘手的是通过单一基因的分析很难发现基因型与复杂表型的功能及分子水平上的关系。最近的研究发现控制某一复杂性状的基因通常相互作用形成一个紧密连接的分子网络[4,5]。在网络水平上综合包括基因型在内的各种“组学”信息的分析方法，为研究多基因相互关系形成的复杂疾病分子机制及复杂性状机理提供了新的研究方法[2,3,6-8]。这样的整合分析不仅能够缩小传统的连锁与关联分析得到的候选基因范围，同时能够为基因型差异的分子与功能基础提供有效的线索，从而使我们理解基因型差异与哪些生物学过程相关，并了解其分子机理是什么。

全基因组关联分析（GWAS）找到了许多与特定复杂疾病表型相关的基因在染色体上的位点，但它们最多能为研究可能产生临床病理学表征的机制提供某些提示[1,9]。能够利用 GWAS 及其他大规模遗传学手段产生的数据鉴定基因产物网络协同环境因子导致复杂疾病表型的分子机制的新方法成为下一步研究的必经之路。因此基于基因网络研究基因型与复杂表型的关系的系统生物学方法日益受到重视[10]。

目前我们对于决定表型的多重相互作用基因、基因产物、代谢过程构成的关联网络在系统水平上只有初步的认识。遗传学者还不能将分子间的冗余性、网络结构

内在的多功能性等基本生物学属性与自己的研究结合起来。采用药物干扰原本是想改变疾病的进程，但是无论我们多么谨慎的选择靶标，都很有可能改变整个系统中许多其他我们目前无法预测的因子。对常见疾病的药物干预经常会产生非预期效果的报道已经充分说明了这个问题。个别遗传突变对药物代谢通路上某个元件的功能影响可能很快会应用于临床，但是进一步研究还需要认识遗传因素和环境因素如何相互作用决定生物学过程在整个生物体健康和疾病状态的功能。正常的生物学通路和系统在遗传变异和环境因子的诱导下会发生的一些重要的扰动，只有通过计算机科学技术、结合基因组学和其他组学（如蛋白质组学、转录组学、代谢组学和生物信息学）与高通量技术（如 RNAi、组织芯片）才可能全面理解[10]。

系统生物学是近几年来活跃发展的生物医学领域的前沿学科。它不同于过去几十年的还原式研究方法，不是以单个基因或单个蛋白为研究对象，而是以多个生物大分子，如多基因、多蛋白组成的生物网络作为研究对象，探讨生物分子之间如何通过动态地相互作用完成特定的生物功能。推动系统生物学迅速发展的主要因素是：人类及重要模式生物全基因组测序的完成为其提供了生物网络的组分清单；高通量、自动化的生物实验手段使大分子生物网络相互作用关系与动态参数的测量成为可能；计算机的存储与分析能力使我们能够分析海量数据；由于生物网络的特有性质（涌现性、稳定性、模块化等）以及许多生物过程及疾病的发生与发展都是多基因、多步骤的过程，我们不能完全依靠经典的生物学研究方法来理解复杂的生物过程，而需要从更高层次的整体水平进行研究[10]。

模式生物能产生可遗传的变异，而且它们的环境可以被人为操控，这使开发模型和验证理论的必要性成为可能。单个或双敲除技术对于系统研究的限制已经十分明显，因此模式生物的表达谱和表型分析等技术已经在对遗传分析和环境干扰应答的研究中显现出优势。这些实验技术的优势在于它们可以同时检测多重扰动并可从大批样本中获得全面的输出。充分发挥这些技术在系统生物学和遗传学研究方面的潜力有赖于合作进行大量的表型分析而获得高质量的数据、重复验证，以及后续更强大统计分析技术的开发。准确定义与定量描述细胞、组织、器官乃至整个生物体水平可见的表型是这类研究的前提。

当然，如果我们要了解人类的表型是如何产生的，最终需要开展对于人类本身的研究。虽然存在很多困难，但是目前已经取得了一些进展。尤其是用表达谱分析特定表型已成为目前临床上广泛接受的一种研究手段，其结果给我们对疾病进行分类和预测，鉴定治疗靶标以及认识发病的基本机制提供了很大帮助。

参 考 文 献

［1］ Altshuler D，Daly M J，Lander E S. Genetic mapping in human disease. Science，2008，322：881-888

[2] Pagliarini D J，Calvo S，Chang B，et al. Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics. Nat Genet，2006，38：576-582

[3] Lage K，Karlberg E C，Storling Z M，et al. A human phenome-interactome network of protein complexes implicated in genetic disorders. Nat Biotechnol，2007，25：309-316

[4] Gunsalus K C，Ge H，Schetter A J，et al. Predictive models of molecular machines involved in Caenorhabditis elegans early embryogenesis. Nature，2005，436：861-865

[5] Gandhi T K，Zhong J，Mathivanan S，et al. Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast，worm and fly interaction datasets. Nat Genet.，2006，38：285-293

[6] Pujana M A，Han J D J，Starita L M，et al. Network modeling links breast cancer susceptibility and centrosome dysfunction. Nat Genet，2007，39：1338-1349

[7] Xia K，Xue H L，Dong D，et al. Identification of the proliferation/differentiation switch in the cellular network of multicellular organisms. PLoS Computational Biology，2006，2：e145

[8] Xue H，Xian B，Dong D，et al. A modular network model of aging. Mol Syst Biol，2007，3：147

[9] McCarthy M I，Abecasis G，Lon R，et al. Genome-wide association studies for complex traits：consensus，uncertainty and challenges. Nat Rev Genet，2008，9：356-369

[10] Han J D. Understanding biological functions through molecular networks. Cell Res，2008，18：224-237

撰稿人：韩敬东

中国科学院遗传与发育生物学研究所

审稿人：陈润生

同卵双生表型差异的分子遗传基础是什么?

Monozygotic Twins and Epigenetics

常见的双胞胎有两种，分为同卵性双胞胎和异卵性双胞胎。由同一个卵分裂而成的，称为“同卵性双胞胎”（monozygotic 或 MZ；identical twins），出生概率为 4/1000)[1]，大约占所有双胞胎的 1/3；由两个不同的卵发育成的双胞胎，则称“异卵性双胞胎”（dizygotic 或 DZ；fraternal twins）出生概率为 12/1000，约占所有双胞胎的 2/3。前者是由同一个受精卵在发育初期分裂成两个胚胎，而形成双胞胎，具有完全相同的基因型；后者则是因为母亲的卵巢同时排出两个卵子，并且分别受精成胎并发育而成，与其他不同时期出生的兄弟姐妹一样，共享来自父母的基因，具有不同的基因型。最近还发现了第三种双胞胎，称为两性双胞胎（sesquizygotic 或 SZ）[2]，推测是两个精子同用一个卵子而产生。由于双胞胎具有相同（如 MZ）或者非常相近的基因型（DZ 和 SZ），所以经常被作为研究对象来评估或区分遗传因素与环境因素的作用，并期待在分子水平揭示它们的关联性，从而成为遗传学与流行病学研究的常用方法，尤其是用来评估基于群体的可遗传性，即遗传对表性变化的贡献率。

然而，大部分基因型完全相同的同卵双生子其实在表型上并不完全相同，可以观察到诸多表型不一致的现象。例如，疾病易感性和在人体测量参数的诸多不同[3,4]。在同卵双生中存在大量的表观遗传差异（epigenetic difference），表明了岁月和环境是不断影响着人类健康的一个重要途径。尽管科学家对这些不同的解释有多种多样的假说，最具有说服力的建议是在表观遗传学（epigenetics）水平的不同，尤其是因年龄增长和不同环境因素带来的变化。其中的一个例子是最近发表的由西班牙科学家牵头、多国科学家参与的一项研究结果[5]，他们以 40 对不同年龄段（3～74 岁）的 MZ 双胞为研究对象，考察了他们总体和具体位点 DNA 甲基化及组蛋白乙酰化的变化，发现尽管年轻的 MZ 双胞没有明显的表观遗传学不同，但是大于 50 岁的 MZ 双胞表现出非常明显的不同，而且有些竟影响到基因的表达。另外一个例子[6]是美国杜曼斯基（Jan P. Dumanski）牵头的国际研究小组考核了 19 对 MZ 双胞胎基因拷贝数变化的情况，当以表型的一致或不一致为分组原则时，他们观察到了 MZ 双胞之间存在明显不同。这一结果还同时指出了表观遗传原理直接导致可遗传变异性的可能，改写了遗传学教科书的内容。更近的一个例子是彼得罗尼斯（Art Petronis）和他的同事们用含有 12 000 个 CpG 岛的 DNA 芯片（12K CpG island microarrays）去研究 CpG 岛的甲基化在 144 个 MZ 双胞和 80 个 DZ 双胞之间的差别[7]。尽管这些报道数量有限，而且还没有深入到基因、基因调控、基

因变异、基因功能与表观遗传学机制的关系和分子细节，但是这些表观遗传学现象的观察对 MZ 双胞胎表型不一致分子机制研究开辟了新的途径[8]。

其实，遗传性（或基因型和染色体结构的动态变化）、表观遗传现象和基因表达在某些方面都具有一定的重叠和相关性。也就是表观遗传学的研究范围，考虑在基因组中除了 DNA 和 RNA 序列以外，其他调控基因的信息，通过基因修饰、蛋白质与蛋白质、DNA 和其他分子的相互作用，而影响和调节基因的功能和特性，并且通过细胞分裂和增殖周期影响遗传。一直以来，表观遗传改变对于生物体各种细胞类型的发育与分化具有关键性的作用，在正常细胞过程，如雌性哺乳动物 X 染色体失活及酵母中配对型位点的沉默方面也有重要作用。目前表观遗传学的研究热点是在发育和疾病发生过程中，基因表达相关的染色质和染色体结构对表观遗传学机制的影响，例如，表观遗传状态会受到环境的影响或衰老的干扰，并在癌症和其他疾病发生过程中引发表观遗传的变化。不同于客观存在，关联也可预言，只不过我们目前的资源、手段和时间有限，所以数据还嫌不足，暂时无法在分子水平上彻底阐述这些不同和关联的细节而已。

参 考 文 献

［1］ Hall JG，Lopez-Rangel E. 1966. In：Twins and Twinning. Eds Emery A E H，Rimoin D L. Churchill Livingstone，New York：395-404

［2］ Souter V L，Parisl M A，Nyholt D R，et al. Case of ture hermaphroditism reveals an unusual mechanism of twinning. Hum Genet，2007，121：179 - 185

［3］ Machin G A. Some causes of genotypic and phenotypic discordance in monozygotic twins pairs. Am. J. Med. Genet，1996，61：216-228

［4］ Gringras P，Chen W. Mechanisms for differences in monozygous twins. Early Hum Dev，2001，64：105-117

［5］ Fraga M F，Ballestra E，Maria F P，et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA，2005，102 (30)：10604-10609

［6］ Bruder C E G，Piotrowski A，Gijsbers A A，et al. Phenotypically concordant and discordant monozygotic twins display different DNA copy-number-variation profiles. Am J Hum Genet，2008，82：763-771

［7］ Kaminsky Z A，Tang T，Wang S C，et al. DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins. Nat Genet，2009，41：240-245

［8］ Petronis A. Epigenetics and twins：Three variations on the theme. Trends Genet，2006，22：347-350

撰稿人：于 军

中国科学院北京基因组研究所

审稿人：查锡良

活细胞内的酶活力能实时跟踪吗？

Can Real Time Monitor Enzyme Activity in Living Cell be Realized?

酶是生物体化学反应的催化剂。生物体的生长发育、遗传、运动、信号转导等各种生命活动都离不开酶的参与。20 世纪二、三十年代 Sumner 与 Northrop 分别证明了酶是蛋白质，他们于 1949 年共同获得了诺贝尔化学奖。虽然生物体主要的、大多数的酶都是蛋白质。但 20 世纪 80 年代初 Cech 和 Altman 分别发现了具有催化活力的核糖核酸（RNA），即 Ribozyme（核酶），他们于 1989 年共同获得了诺贝尔化学奖。

对于酶的活力测定与研究以往几乎完全是在试管中进行的。这些研究对于了解酶分子的性质、结构与功能的关系、酶的作用机制起到了很大的作用。但是在试管里进行研究时往往把条件简化了。这样虽然得到了一些认识，但是在细胞内酶的活性是否与试管里看到的完全一致并不确定。例如，在试管中研究酶时，往往是酶的浓度远低于底物浓度，但是在细胞内酶的浓度与底物浓度常常是差不多的，这一点在研究细胞内酶动力学时就必须要考虑；在试管里研究有水参与的水解/合成酶时往往不考虑水的浓度，但在细胞内就需要考虑反应进行处的水的浓度；在一个代谢途径中有许多酶相继起作用，在试管里进行研究时这些酶是分散分布的，但是在细胞内它们可能在结构上排列在一起，从而代谢物可能由代谢途径上的酶依次以接力的方式直接进行，大大加速代谢的效率。这也就解释了为什么在试管中测得的三羧酸循环的第一个酶——柠檬酸合酶反应速度竟然会低于总的循环速度[1]。

科学家在努力探讨建立活细胞内酶活力测定的方法。对于底物本身有特殊光吸收或荧光而且在反应后发生改变的那些酶进行活体内实时检测会比较容易，而对于大多数细胞内酶反应的测定需要设计出新的底物衍生物，这种底物衍生物在特定酶促反应前后应会显示物理性质的改变，从而反映有关酶的活力。近年来对于荧光共振能量转移（fluorescence resonance energy transfer，FRET）方法的应用有较多的研究[2]。FRET 的原理是在底物上标上两种荧光物质，其中一种的光吸收波长与另一种的荧光发射波长有明显重合，当两种荧光物质的发色基团接近到一定程度时，就会发生能量转移。生物发光共振能量转移（bioluminescence resonance energy transfer，BRET）的应用与原理和 FRET 相似。

2008 年美国 Osamu Shimomura、Martin Chalfie 与 Roger Y. Tsien（钱永健）教授因在发现与发展绿色荧光蛋白的应用上的成就而获得了诺贝尔化学奖。利用绿色荧光蛋白的好处是它可以与目标蛋白融合表达，在多数情况下融合蛋白不影响目标蛋白的功能。绿色荧光蛋白也有缺陷，它的荧光色团不够稳定，在大约发射 10^5

个光子后会被漂白。除了来自水母的绿色荧光蛋白外，来自珊瑚虫的不含辅基的荧光蛋白也得到广泛应用。由于它们的激发与发射光谱与绿色荧光蛋白不同，因此有很好的互补应用价值。

测定细胞内酶活力时需要将底物导入细胞内，目前已有不少细胞内酶活力测定的报道。对于蛋白水解酶如胰蛋白酶来说，单单导入一个插入了酶水解专一性位点的多肽序列的绿色荧光蛋白就可以有效地作为胰蛋白酶的传感器[3]。如果采取FRET技术，由于底物被催化后结构必然有变化，不同设计的底物在酶作用后FRET就有可能消失或发生。利用FRET不仅可以跟踪酶，例如Caspase在个别细胞内的活力，也可以来研究细胞内酶的激活动力学[4]。此外，一些设计的传感器能够显示细胞内起酶激活作用的分子或离子如cAMP、Ca^{2+}、表皮生长因子受体[5]等。然而表达的GFP融合蛋白毕竟是外源蛋白质，高表达的外源蛋白质在细胞内的分布与功能状态可能会与内源性的有差别。因此如何在不产生对细胞微扰动的情况下实时测定细胞内特定的酶的活力是这个难题的关键。以往比较简单而有效的例子是利用细胞色素在氧化或还原时的特征性的光吸收来观察活体昆虫肌肉运动时细胞色素的氧化还原状态。

科学家在不断努力，包括试图利用底物/产物分子本身的其他物理性质，如磁、电导等来进行研究。但是活体细胞内的物质（包括酶与它的底物）是在不断运动的，结构也在变化中。要发展出实用的真正反映活体细胞内酶的实时反应的技术还需要更多的创新思维与创新技术，也需要较长时间的努力。但是只有了解了活体细胞内的真实情况，才有可能真正了解生命活动的分子与细胞机理。

参考文献

[1] Xu X，Gerard A L，Huang B C，et al. Detection of programmed cell death using fluorescence energy transfer. Nucleic Acids Res.，1998，26：2034－2035

[2] 林其谁．细胞内实时检测的意义．见：生命科学中的单分子行为及细胞内实时检测．北京：科学出版社，2005. 103－121

[3] Chen N. Designing protease sensors for real-time imaging of trypsin activation in pancreatic cancer cells. Biochemistry，2009，48，3519－3526

[4] Morgan M J，Thorburn A. Measurement of caspase activity in individual cells reveals differences in the kinetics of caspase activation between cells. Cell Death and Differentiation，2001，8，38－43

[5] Offterdinger M，Georget V，Girod A，et al. Imaging phosphorylation dynamics of the epidermal growth factor receptor. J Biol. Chem.，2004，279，36972－36981

撰稿人： 林其谁

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人： 查锡良

核基因组与核外基因组是如何协调的?

How the Nuclear Genome Coordinates with Organellar Genome?

真核细胞的核基因组存在于细胞核内，但是细胞质内的两种细胞器线粒体和绿色植物的叶绿体内也含有独立于细胞核的基因组，它们的基因的转录以及翻译均在这些细胞器内进行。但是细胞器的基因组又不足以独立自主地发挥功能，需要核基因组的参与和协调。

线粒体不是漂浮在细胞质中有固定大小的细胞器，而是形成一种动态网络。它们在细胞内不断运动、分裂和融合。线粒体在细胞内不能从头合成，它只有通过增生与分裂而增加。人细胞线粒体含有环状的由 16 569 个核苷酸组成的 DNA，含有 37 个基因，编码 13 条多肽链、22 种 tRNA 和 2 种 rRNA。13 条多肽链全都参与构成细胞呼吸、氧化磷酸化的重要膜蛋白复合物，包括：呼吸链复合物Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ与 ATP 合成酶的亚基。但是这些复合物中还有 76 条多肽链是由核编码合成的。线粒体约有 1500 种蛋白质，其中 1040 种已经得到鉴定。因此线粒体所含的蛋白质中 98%以上是由核基因组编码的。而由核基因组编码的蛋白质，包括所有参与线粒体 DNA 复制、转录、翻译（如所有核糖体蛋白质亚基）的蛋白质必须被传送到线粒体内。有的线粒体蛋白质具有不止一种功能。如细胞色素 c 在线粒体内参与氧化磷酸化合成 ATP，而被释放到细胞质后则参与细胞凋亡。再如与帕金森氏病有关的 parkin 蛋白，在细胞质内是一种泛素—蛋白质连接酶，而在线粒体则是线粒体转录因子 A（Tfam）的共激活剂，起到刺激线粒体 DNA 复制与转录的作用。

线粒体有着重要的生物学功能，与细胞存活密切有关。概括起来包括：合成 ATP、整合中间代谢、储存有毒蛋白质（这些蛋白一旦释放到细胞质中将导致细胞凋亡），通过线粒体与细胞骨架的结合提供细胞内信号分子分布到细胞内各部分的移动平台。

核基因组与核外基因组是如何进行信息交流的? 在细胞分裂与细胞器生物发生时两类基因组是如何沟通协调的? 由两类基因组编码的蛋白质复合物的亚基的合成是如何能够达到完全准确同步的? 核基因组与核外基因组交流的信息是什么? 如何进行交流是这个难题的几个关键问题。

线粒体与核的交流总的来说有两个层面，一是主要关系到转录因子（正向调节），最主要的是过氧化酶体-增生剂-激活受体共激活剂-1（PGC-1，peroxisome-proliferator-activated receptor coactivator-1）；另一个主要关系到线粒体本身功能状态（反向调节），这与线粒体膜电位以及未折叠蛋白质在线粒体内的积累有关[1]。

植物中拟南芥的线粒体编码33条多肽链、20种tRNA和3种rRNA。细胞核编码的拟南芥线粒体蛋白质，其表达的调节关系到复杂的转录与转录后过程，包括5′与3′RNA加工、内含子切除、RNA编辑与RNA稳定性。而拟南芥线粒体基因编码的蛋白质表达的调节几乎完全在于转录后调节。利用拟南芥的细胞培养，通过改变培养基中糖的含量可以研究线粒体的生物发生，并显示2种基因组在基因表达上的协调。结果发现2种基因组在转录水平上并没有交流协调，但在转录后水平上有协调，在蛋白质复合物装配上有明确的交流，但是具体的细节还不清楚[2]。

绿色植物中的叶绿体基因组通常含44个编码多肽的基因（有的植物叶绿体基因组编码高达209条多肽链），它们参与叶绿体基因转录与光合作用（光合系统Ⅰ，光合系统Ⅱ，细胞色素 b_6f 复合物与偶联的ATP酶）。叶绿体本身并没有编码任何基因表达的自主调节者，也没有能力处理环境改变所带来的基因表达改变的需求，但是它能够释放一些信号给细胞核。因此，细胞核与叶绿体也有正向与反向调控信号。但是这些信号的本质是什么？有哪些？目前虽然有了一些零星的报道，但是还没有得到确定。正向信号在几个水平上控制细胞器的各种性质，包括细胞器的基因表达等。叶绿体核基因转录水平的调节控制了许多叶绿体蛋白质的丰度。叶绿体的基因表达，包括转录、RNA编辑、成熟与加工，以及叶绿体编码的蛋白质的翻译在很大程度上是由核编码的因子调节的。叶绿体的分裂是受核编码蛋白质严格控制的。然而现有的结果提示从细胞核到叶绿体的正向调控主要是在转录后水平上，而从叶绿体到细胞核的反向调控主要在转录水平上。

绿色植物细胞中同时含有叶绿体与线粒体。它们分别利用光或化合物产生ATP。在生物功能上它们有联系，例如光合作用需要线粒体的产物二氧化碳，也会利用线粒体生产的ATP。另一方面光合作用提供线粒体呼吸所需的氧与苹果酸。它们的基因组之间必然需要协调。虽然已有一些间接证据，例如，植物细胞含线粒体甘氨酸脱羧酶突变体的光呼吸减弱，而含NADH脱氢酶突变体的植物细胞的光合成减弱。但是目前对于两个细胞器之间的直接协调过程还欠了解。

综上所述，要解决这个难题还需要许多研究，而在解决这个难题的道路上会有许多新的发现[3]。

参考文献

［1］ Woodson J D，Chory J. Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. Nature Review Genetics，2008，9（5）：383-395

［2］ Giege P，Sweetlove L J，Cognat V，et al. Coordination of nuclear and mitochondrial genome expression during mitochondrial biogenesis in *Arabidopsis*. The Plant Cell，2005，17

(5)：1497-1512

［3］ Kleine T，Voigt C，Leister D. Plastid signalling to the nucleus：messengers still lost in the mists? Trends Genet，2009，25 (4)：185-192

撰稿人：林其谁

中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

审稿人：陈　佺

怎样才能让植物合成我们想要的化合物？

Can Plant Metabolic Engineering Be Predictable?

植物利用太阳能进行光合作用，并以空气中的二氧化碳为主要原料合成大量的有机化合物。作为生态系统中的初级生产力，植物不仅是人类的主要食物来源，也是药品、食品和化妆品等一大批轻化工的主要原料来源。除糖类、脂类和蛋白质等能量物质外，植物中还含有大量的特殊代谢物（又称次生代谢物），其中以异戊二烯类、苯丙烷类和生物碱类为主。据估计，植物中所含的特殊代谢物在 10 万种以上[1]。在自然界中，植物特殊代谢物的合成与分布具有三个特征：①特定的化合物通常只在某一种或某个类群的植物中出现；②通常只在植物的某个特定的组织或器官中合成与积累；③通常只在植物生命的某个特定阶段进行合成与积累。这些特性增加了获得特殊代谢物的难度。一方面它们通常在植株中含量较低，另一方面那些特殊代谢物含量高的植物往往生长缓慢且对环境要求苛刻，因而造成现有的生物量不能满足应用需求。即便是甘草这样适应范围非常宽泛的植物，由于需求量大，目前也濒临资源匮乏的困境。

随着植物化学、生物化学和分子生物学和生物技术的发展，根据已有的工作积累和利用模式植物进行的系统研究，目前对于一些特殊代谢物生物合成的基本途径（主干途径）已经了解。人类根据自身在风味、口味、营养、健康和观赏等方面的需求，在传统遗传育种的基础上，正不断开展基因工程研究，以对植物的代谢途径进行调控和改造，使其能够根据人类需要大量合成原本含量较低的产物，或者利用生长迅速的植物或微生物作为“反应器”来进行工厂化生产。随着社会经济的发展，代谢工程正在成为一个全球性的研究热点。例如，从菊科植物黄花蒿（*Artemisia annua* L.，又称青蒿）中提取的萜类化合物青蒿素（artemisinin）是治疗恶性疟疾最为有效的药物[2]。由于植物中青蒿素的含量较低，其产量远远不能满足世界需求。为此，在对于青蒿素生物合成途径基本了解、相关基因已经得到克隆的基础上，2004 年美国盖茨基金会斥资 4000 多万美元，用于在微生物中半合成青蒿素，并建立发酵工程设施以期实现工业化生产。

近十年来，在植物代谢改造领域中最成功的范例之一是金色稻米（Golden Rice）的培育。全球每年有 25 万～50 万儿童因维生素 A 缺乏引起失明，而植物性食物中的类胡萝卜素（尤其是 β-胡萝卜素）是维生素 A 的合成前体，也是人体获得维生素 A 的重要途径。通过转基因技术特异地表达类胡萝卜素生物合成途径中的关键酶基因，科学家成功地将每千克稻米中的类胡萝卜素含量从几乎为零提高到

37mg，而且其中80%以上是β-胡萝卜素，已经能够基本满足人体对维生素A的需求[3]。

但是，利用分子生物学手段来改造植物的代谢过程也时常得到一些出乎意料的结果。例如，研究人员通过向矮牵牛中转入芳樟醇合成酶基因，以期获得的花朵不仅颜色鲜艳而且具有芳樟醇的诱人香味。但是在实验中，虽然这个基因得到了表达，在花中却没有如愿检测到芳樟醇的气味。进一步的研究表明，在转基因矮牵牛中的确一度合成了芳樟醇，但随即又被糖基化酶催化了后续的衍生步骤，将芳樟醇转变为没有挥发性的糖甙储存在细胞中，而不是以气体的形式释放出来形成香味[4]。

无论结果是成功还是意外，越来越多的研究工作展示着植物特殊代谢物合成过程的复杂性。由于这些代谢过程的特殊性，目前还只能在很少几种植物中完全克隆一些代谢途径的酶基因，而更多植物中大量酶基因的克隆与功能鉴定还将是一个漫长的繁琐工作，尤其是对于糖基化酶、甲基转移酶、P450单加氧酶等目前还无从进行功能预测，但它们又对代谢物的形成具有重要意义。缺少足够而合适的基因，在很长一段时间里将是进行植物可预测代谢工程的瓶颈。另一方面，植物体内各条代谢途径相互交织，成为庞大的代谢网络中彼此之间相互促进或者拮抗的不同分支，而其中一些代谢途径与植物的正常生理活动息息相关。例如，类胡萝卜素与植物激素赤霉素的合成途径之间，存在着对牻牛儿基-牻牛儿基二磷酸（GGDP）的竞争关系。增加类胡萝卜素的生物合成速率有时会引起植物的矮化、生长缓慢和抗病能力下降，从而形成质量和产量之间的矛盾[5]。新的研究工作正不断帮助我们深入理解这些分支之间从代谢流分配到信号作用等各个不同水平上的相互关系。如何了解植物的天然产物代谢规律并加以利用，使植物在正常生理过程不受干扰或者少受干扰的条件下，能够按照实验者所预期的目标合成特定的化合物，无疑是当前生物技术领域一个极具挑战性的研究课题。

另一个重要方向是对“库”的调控。植物特殊代谢物的合成与积累通常发生于特定的组织或细胞器中。如青蒿素只在黄花蒿的腺毛中合成，类胡萝卜素大量积累于细胞的有色体中。近期从花椰菜的一个金黄色突变体中克隆得到的*Or*基因能够特异地诱导白色体向有色体的转化（图1），从而在基本不影响生长的基础上在菜花中积累大量的类胡萝卜素（主要是β-胡萝卜素）[6]。这显示利用基因工程手段，促进相应组织或细胞器的形成与发育，有可能是达到不干扰代谢过程而实现代谢物大量积累的一个更加有效的手段。但这一工作需要建立在对相应的植物发育生物学、细胞生物学和代谢过程进行大量研究的基础之上。



图 1　花椰菜金黄色突变体和野生型的对比

野生型的菜花（A）和叶柄（D）无类胡萝卜素积累；而突变体在菜花（B）中大量积累类胡萝卜素，在叶柄（E）中也有色素形成。纯合突变体（C）的菜花生长受到抑制，体积较小[6]

综上所述，人类对健康、营养和环境可持续发展的需求将不断提出“可预测”代谢调控的新的课题。而这一领域在很长一段时间里将是非常具有挑战性的研究。为实现这一目标需要开展细致深入的工作，如克隆和鉴定新的酶基因作为研究工具；进行代谢网络的解析和基因表达分析来阐明各相关基因的表达调控和相互作用；寻找和利用新的对某个代谢途径具有全局调控作用的转录因子；根据对代谢过程的区室化和对植物发育生物学与细胞生物学的研究；通过对“库”的调控来促进代谢物的积累；以及利用各种突变体来探新的调节机制等。只有建立在对以上工作全部或大部分了解的基础上，相关代谢工程的研究才有较大把握实现其“可预测”性。

参 考 文 献

［1］ DellaPenna D. Nutritional genomics：manipulating plant micronutrients to improve human health. Science，1999，285：375-379

［2］ Klayman D L. Qinghaosu (artemisinin)：an antimalarial drug from China. Science，1985，228：1049-1055

［3］ Al-Babili S，Beyer P. Golden rice - five years on the road - five years to go? Trends Plant Sci.，2005，10：565-573

［4］ Luecker J，Bouwmeester H J，Schwab W，et al. Expression of *Clarkia* *S*-linalool synthase in transgenic petunia plants results in the accumulation of *S*-linalyl-β-D-glucopyranoside.

Plant J.，2001，27：315-324

［5］ Fray R G，Wallace A，Fraser P D，et al. Constitutive expression of a fruit phytoene synthase gene in transgenic tomatoes causes dwarfism by redirecting metabolites from the gibberellin pathway. Plant J.，1995，8：693-901

［6］ Lu S，Van Eck J，Zhou X J，et al. The cauliflower *Or* gene encodes a cysteine-rich zinc finger domain-containing protein that mediates high-levels of beta-carotene accumulation. Plant Cell，2006，18：3594-3605

撰稿人：[1] 卢　山　[2] 陈晓亚

1 南京大学

2 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所

审稿人：王克夷

蛋白质是如何通过别构效应来传导信号的？

How Do Proteins Transmit Signals Through Allosteric Mechanisms?

生物体内的细胞接受外部环境的某种信号并在细胞体内引发一系列反应，从而转换为另外一种信号的过程称为信号传导[1]。这也是细胞或者说是生物体具有适应性的根本原因。信号传导一般涉及多级反应，从膜外受体和信号分子的结合开始，逐步向细胞内部传导，在这个过程中开始很微小的信号可以被逐步放大，使得细胞能够对关键的环境因素细微改变做出及时调整。在这种级联的信号通路中蛋白质扮演了核心的角色，通路上的节点如外围的膜蛋白受体、细胞基质里的各类激酶、细胞核上的受体和细胞核内的启动转录翻译的酶都是由蛋白质组成的。

蛋白质不仅在细胞尺度上对信号进行传导，从单个分子的角度来看，在很多信号传导过程中蛋白质分子内部也存在信号的传递过程。例如 G 蛋白偶联受体与配体结合后其胞内部分的结构会产生构象变化，从而为随后激活 G 蛋白提供结构基础[2]。这种蛋白质局部的相互作用影响远程结构和功能的过程称为别构效应。别构效应可以描述为由一个效应子所引发的微扰通过改变体系的形状和（或）动力学从而导致底物结合部位的功能改变。别构效应可以通过与小分子、大分子结合来实现，也可以通过改变温度、pH、离子强度、浓度等外部环境来实现，还可以通过对于蛋白质的共价修饰，如糖基化、磷酸化和泛素化等来实现。别构效应具有高度协同性的特征，能够改变蛋白质的动态行为从而上调或下调蛋白的功能[3]。

关于别构效应的发生过程和对蛋白质动态行为的改变目前还有很多问题没有搞清楚，例如，这种效应是如何从蛋白质的一个部位传导到另外一个通常是几个纳米之外的部位？能否找到信号在蛋白内的传导途径，这样的途径是单一的还是多重的？如何定量描述别构效应所引起的信号放大尺度？不同的配体分子是否会导致不同的传导路径？两个经典理论是 20 世纪 60 年代提出的 MWC（Monod-Wyman-Changeux）理论[4]和 KNF（Koshland-Nemethy-Filmer）理论[5]。两者都认为别构效应是蛋白质通过在一个位点与分子的结合在另外一个位点产生构象变化来进行活性调节的过程。前者主要强调构象变化是在两个独立共存的状态之间的协同转变，后者则强调是由分子结合诱导的一系列的构象改变。这两种理论背后都隐含了一些假设：蛋白质在小分子结合前就按一定比例存在两种不同的构象，别构效应一定会导致构象改变，而且这种改变在蛋白质内部是沿着单一路径传播的。随着研究的深入和实验数据的积累，这种静态的观点显示出越来越多的不足之处。最近，Ruth Nussinov 等提出了新的更普适性的理论[3,6]。他们认为在小分子结合前蛋白存在多

种构象的集合，而不是只有两个构象；别构过程是一个热力学的现象，熵和焓都有可能主导整个变化；别构效应在蛋白质内部的传递同时存在多条路径，而不是一条；别构过程不一定伴随着构象的改变。尽管新的理论比经典理论更一般化而且有一些实验的支持，但是还有待进一步的检验。

从对单个蛋白质别构现象的研究来看，目前无论是在实验还是计算方面都存在一些不足。在实验方面，由于构象变化的过程一般是瞬时的，没有稳态存在，目前结构生物学的研究手段，无论是X射线晶体学还是核磁共振技术都只能看到初态和终态，中间的结构很难观察到；另外在对别构效应传导路径的研究上，目前常用的方法是通过单点丙氨酸突变来进行间接推测[7]，缺乏直接的观测手段。其他方法，诸如荧光共振能量转移（FRET）、时间分辨光谱等方法也只能提供间接信息，并且对结构的细微改变不够敏感。从计算模拟上来说，别构效应发生的时间尺度一般在毫秒以上，超出了目前的全原子模拟能达到的时长[8]，所以目前只能使用一些粗粒化的模型。一种比较常用的简化模型是正则模式分析（normal mode analysis，NMA）。NMA假设天然蛋白质的结构处于一个谐振势的能量极小点，通过解析蛋白质在极小点附近的振动模式来得到关于蛋白质的动态信息。有不少研究表明这样得到的低频本征模式和蛋白质的变构方向有很好的相关性[9,10]。由于处于别构效应传导路径上的氨基酸残基一般都比较保守，也可以通过考察同一家族内序列的保守性来推测传导路径[11]。当然这种方法只能用在已知很多同源蛋白序列的家族里。

总之，关于蛋白质的别构效应所导致的信号传导机理目前还有很多问题没有搞清楚。希望随着实验和计算手段的发展，我们能够更深入地了解这些现象的本质，并在此基础上更好地研究信号传导网络的信号处理、存贮和决策过程[12]。

参 考 文 献

[1] Krauss G. Biochemistry of Signal Transduction and Regulation (Second Edition). Weinheim，Berlin：Wiley-VCH，1999

[2] Miller L J. G protein-coupled receptor structures，molecular associations，and modes of regulation. Ann N Y Acad Sci.，2008，1144：1-5

[3] Tsai C J，Del Sol A，Nussinov R. Protein allostery，signal transmission and dynamics：a classification scheme of allosteric mechanisms. Mol Biosyst.，2009，5（3）：207-216

[4] Monod J，Wyman J，Changeux J P. On the nature of allosteric transitions：a plausible model. J Mol Biol.，1965，12：88-118

[5] Koshland D E，Nemethy G，Filmer D. Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. Biochemistry，1966，5（1）：365-385

[6] del Sol A，Tsai C J，Ma B，et al. The origin of allosteric functional modulation：multiple pre-existing pathways. Structure，2009，17（8）：1042-1050

[7] Datta D，Scheer J M，Romanowski M J，et al. An allosteric circuit in caspase-1. J Mol Bi-

ol.，2008，381（5）：1157-1167

［8］ Klepeis J L，Lindorff-Larsen K，Dror R O，et al. Long-timescale molecular dynamics simulations of protein structure and function. Curr Opin Struct Biol.，2009，19（2）：120-127

［9］ Balabin I A，Yang W，Beratan D N. Coarse-grained modeling of allosteric regulation in protein receptors. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106（34）：14253-14258

［10］ Yang Z，Majek P，Bahar I. Allosteric transitions of supramolecular systems explored by network models：application to chaperonin GroEL. PLoS Comput Biol.，2009，5（4）：e1000360

［11］ Suel G M，Lockless S W，Wall M A，et al. Evolutionarily conserved networks of residues mediate allosteric communication in proteins. Nat Struct Biol.，2003，10（1）：59-69

［12］ Rousseau F，Schymkowitz J. A systems biology perspective on protein structural dynamics and signal transduction. Curr Opin Struct Biol.，2005，15（1）：23-30

撰稿人： 戚逸飞　来鲁华

北京大学

审稿人： 林其谁

线粒体进化过程中为何选择性保留少部分线粒体自身基因?

Why Mitochondria Selectively Retain Some Genes Itself During Evolution?

线粒体是细胞内半自主的细胞器。它含有一个能表达为数不多的基因的完整基因组。线粒体的内共生起源受到了科学界的广泛认可。古细菌应该是能自由生活的单细胞个体，应包含控制其生存和繁殖相关的较大的完整基因组。在进化过程中，很多基因转移至细胞核，参与细胞核的基因组进化。系列和进化分析表明，线粒体基因的确存在于细胞核中。科学家对很多生物的线粒体基因组进行了系列分析。人细胞线粒体有 16 589 碱基，表达 13 个蛋白。此外还有 24 个负责线粒体基因组复制和翻译转录的相关基因。原生动物 *R. americanus* 能编码 67 个蛋白质基因，26 个 tRNA 等较为复杂的基因组。不同植物细胞线粒体基因组大小并不相同，玉米中包含 570 000 碱基。大多数植物线粒体基因组能表达 60 多个蛋白质。最多的陆地植物 *M. polymorpha* 线粒体基因组有 187 000 碱基，能表达 69 个蛋白质。看来，线粒体基因组的大小与其进化和生存环境有关。有些寄生虫的生存不具独立性，其线粒体基因组基因丧失更多。

目前知道，线粒体有大约 1400～1500 个左右的不同蛋白质。除少数几个有线粒体编码的蛋白质外，其他都有核编码。核编码的基因负责线粒体的发生、线粒体 DNA 酶和 RNA 酶。核糖体蛋白、DNA 延伸因子、tRNA 合成酶及存在于线粒体中的重要代谢酶系都是由核编码的。以真核细胞为例，线粒体呼吸链复合体Ⅰ包含有 45 个蛋白亚基，其中 7 个有线粒体基因组编码（ND1-5、ND4L、ND5 和 ND6）。复合体Ⅲ中的细胞色素 b 由线粒体基因组编码。复合体Ⅳ中 13 个蛋白质亚基中的 C_OⅠ，Ⅱ和Ⅲ由线粒体基因组编码。ATP 酶中的 16 个亚基中的 ATP6 和 ATP8 由线粒体基因组编码。线粒体基因组还编码 12S 和 16SrRNA 及 22 个 tRNA。

为什么表达呼吸链和 ATP 合成中的关键蛋白的基因会在进化中被选择性保留下来？有学者提出了不同假说。早先有人提出了线粒体基因组的遗传密码可能同核基因组的不同，但线粒体基因组系列分析否定了这一说法。有人提出保留这些蛋白质是为了保证有关蛋白复合体在线粒体内膜的组装。也有人提出线粒体表达的蛋白质疏水性强，如核表达的话不易转运至线粒体，从而需要线粒体独立的基因组来表达，实现正确组装。

最近 Wallace 提出了这些基因的保留可能与这些蛋白质在线粒体的功能和进化中的关键地位有关[1~3]。线粒体的重要功能之一是产生细胞生命活动所需要的能量。线粒体内膜上有负责细胞氧化磷酸化的蛋白复合体Ⅰ-Ⅳ。这些复合体主要利用三羧酸循环所产生的底物，进行电子传递，并将线粒体基质中的质子转运至线粒体膜间隙中，从而建立线粒体内膜上的质子梯度。这种质子梯度通常线粒体的分子马达 ATP 酶来产生 ATP，供细胞能量代谢的需要。有意义的是，线粒体基因组所编码的所有蛋白都是呼吸链复合体的核心分子，在质子转运和质子梯度形成中起关键作用。呼吸链复合体Ⅰ、复合体Ⅲ、Ⅳ和 ATP 酶，这四个复合体对质子的转运必须很好地协调好。如果其中一个复合体蛋白发生突变，其质子转运功能的丧失，甚至质子出现回流，这样会造成质子短路（short-circuit）。这就需要这些负责质子转运的分子有很好的协同进化。线粒体基因组缺乏基因重组，同时只维持母系遗传特性，这样的遗传机制能很好维持这些基因的协同进化，因而在进化上得以保留。看来，这方面的争论还会继续下去。

线粒体不仅是真核细胞中的能量代谢中心，同时也是细胞死亡控制中心。线粒体基因组的突变与多种神经疾病和代谢相关性疾病的发生密切相关。这些线粒体疾病目前还没有很好的治疗手段。深入了解线粒体进化和发生的特点，不仅对线粒体和细胞进化有重要意义，同时对线粒体疾病发生的机制和与人类起源演化有重要意义。

参 考 文 献

［1］ Wallace D C. Mitochondria as chi. Genetics. 2008. 179（2）：727-735

［2］ Wallace D C，Fan W. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse. Genes and Development . 2009. 23（15）：1714-1736

［3］ Wallace D C. Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. Annual Review of Biochemistry. 2007. 76：781-821

撰稿人：陈 佺

中国科学院动物研究所

审稿人：林其谁

细胞自吞与细胞内的垃圾处理和回收系统

Autophage of Cell and Cellular Garbage Disposal and Recycting System

细胞内存在重要的垃圾处理和回收利用系统。细胞在遇到饥饿环境或细胞器受到损失时，细胞会形成一种特殊的膜系，将受损失或待降解的细胞内容物或细胞器等包裹起来，这种膜系称为自噬体（autophagosome）。自吞体与溶酶体结合并由溶酶体的蛋白水解酶降解的内容物能被作为能量，供细胞生存利用。这一过程被称为自吞噬过程。

在很多生理和病理条件下，如饥饿、氨基酸缺乏、生长因子去除、错误折叠的蛋白堆积、微生物入侵等都可以诱导并显著增强细胞自吞噬水平，其中最典型的一个因素是营养缺乏（特别是氨基酸缺乏）。细胞通过 mTOR 激酶系统来感受细胞营养状态，调节自吞噬水平。TOR/mTOR 本身是一个丝氨酸/苏氨酸激酶，通过影响其下游诸多基因的转录和翻译来抑制细胞自吞。当营养缺乏时，mTOR 蛋白激酶系统失活，自吞噬过程被激活。

目前知道有很多基因参与调控自吞噬过程。有人利用酵母为模型鉴定出三十多种参与酵母 autophagy 的特异性基因，这些基因被统一命名为酵母自噬相关基因 ATG（Au Topha Gy-related）。另外还有很多相关基因参与自吞噬的调节。自吞过程包括前自噬小体形成，自噬小体前体、自吞体形成和自噬体和溶酶体的融合等步骤。前自吞小体结构（preautophagosomal structure，PAS）的组装从 Atg17 开始，它募集 Atg13-Atg1 和 Atg9，Ⅲ型磷酸肌醇 3 激酶（class Ⅲ phosphoinositide 3-kinase，PI3K）复合体，然后募集 Atg18、Atg20、Atg21、Atg24、AtgG27 到 PAS 区域。在 PAS 区域，Atg12 首先由 E1 样酶 Atg7 活化，之后转运至 E2 样酶 Atg10，最后与 Atg5 共价结合。LC3 前体（ProLC3）形成后，首先加工成细胞质可溶性形式 LC3-Ⅰ，并暴露出其羧基末端的甘氨酸残基。同样，LC3-Ⅰ也被 Atg7 活化，转运至第二种 E2 样酶 Atg3，并被修饰成膜结合形式 LC3-Ⅱ。LC3-Ⅱ定位于前自噬体和自噬体，使之成为自噬体的标志分子。分离膜片（isolation membrane）富聚在待吞噬内容周围，并融合成为双层膜结构形成的空泡，这种双层膜结构被称为自噬体（autophagosome）。自噬泡的外膜与溶酶体膜融合，内膜及其包裹的物质被溶酶体中的酶水解为氨基酸或核苷酸。一旦自噬体与溶酶体融合，自噬体内的 LC3-Ⅱ即被溶酶体中的水解酶降解。

看来细胞自吞过程受多基因和多种蛋白因子调控。这些蛋白如何作用来调控这一复杂过程目前还不完全清楚。细胞自吞看来是一个高度保守的过程。高等生物是

否存在特异的基因参与更为复杂的细胞自吞的调控？自吞过程是细胞在饥饿条件下的一种生存机制，对细胞生存有一定作用。但最新的研究发现，细胞自吞的异常可能导致异常细胞器和异常折叠的物质的积累，或有功能细胞器的不正常丧失，从而诱发细胞死亡。这种方式被称为细胞自吞噬死亡（autophagic cell death）。*Bcl*－2基因既参与细胞凋亡调控，同时也参与细胞自吞调控。目前发现细胞自吞的异常与多种代谢疾病、神经退行性疾病、免疫疾病和肿瘤等都有密切关系。

细胞自吞噬是否具有选择性？最新的证据表明，蛋白的泛素化修饰在选择性自吞的识别中有关键作用[1]。待吞噬的细胞器或不正常积累的蛋白能被泛素化。这种泛素化的蛋白能招募 p62 蛋白分子。该分子能进一步招募 LC3 分子和自吞相关的分子，从而实现对不同内容物的选择性自吞。以线粒体为例，它在细胞生存和死亡中都有关键作用。受损伤的线粒体能大量释放促凋亡物质如细胞色素 c 等。很可能在进化过程中，细胞内存在一套选择性清除受损伤的线粒体的自吞系统，或称为线粒体自吞（mitophagy）。有证据表明，线粒体膜上存在的通透性膜孔的开放与线粒体自吞密切相关。此复合体横跨线粒体内外膜，其中包括细胞质中的蛋白质（已糖激酶）、外膜蛋白（电压门控通道 VDAC）、内膜蛋白（腺苷酸转运蛋白 ANT）和线粒体基质蛋白 cyclophilin D 等组分[2]。线粒体外膜的 VDAC 和内膜的 ANT 都参与线粒体合成的 ATP 转运，在能量代谢中起关键作用。这种模孔对细胞内 Ca^{2+}、pH、线粒体膜电位（$\Delta\Psi m$）及自由基水平非常敏感。这种模孔如何参与线粒体被选择性自吞的分子机制有待进一步研究[3]。

细胞自吞与多种疾病如肿瘤、神经退行性疾病和免疫相关疾病的发生有密切关系，但自吞的异常导致这些疾病发生的分子机制目前还不清楚。有意思的是，细胞自吞机制可能与寿命的长短有直接的关系。西罗莫司（Rapamycin）是细胞自吞的诱导剂，它有明显的延年益寿的功效，这其中的奥妙有待进一步阐明。

参考文献

［1］ Kirkin V，McEwan D G，Novak I，et al. A role for ubiquitin in selective autophagy. Molecular Cell . 2009. 34（3）：259-269

［2］ Scarlatti F，Granata R，Meijer A J，et al. Does autophagy have a license to kill mammalian cells? Cell Death and Differentiation. 2009. 16（1）：12-20

［3］ Xie Z，Klionsky D J. Autophagosome formation：core machinery and adaptations. Nature Cell Biology . 2007. 9（10）：1102-1109

撰稿人： 陈　佺

中国科学院动物研究所

审稿人： 俞　立

生理学、免疫生物学

正常细胞如何转变成肿瘤细胞以及肿瘤细胞如何逃脱机体的免疫监控？

How Normal Cells Transform to Tumor Cells and How Tumor Cells Escape from Immunosurveillance?

众所周知，恶性肿瘤是一类高死亡率、高度危害人类健康的疾病。然而，正常细胞如何转变成肿瘤细胞以及肿瘤细胞如何逃脱机体的免疫监控（immunosurveillance）等问题一直没有准确而详尽的答案。可以说，这是多年来的科学难题，迄今没有彻底揭开谜底。在肿瘤发生、发展过程中，促细胞增殖、抗细胞凋亡与逃脱机体的免疫监视是几大最基本的要素。这些生命活动是由多种因子、癌基因和信号转导网络来控制的。如细胞因子、p53、PTEN、c-Myc、Pim 以及 PI3K/AKT、Jak/STAT、RAS 信号通路等。这些因子或信号分子的表达异常和（或）功能异常，如编码这些关键蛋白的基因突变及肿瘤抗原编码基因的遗传变异，并在有其他因素协同下，均有可能诱导肿瘤发生。然而，许多其他因素仍未被阐明，肿瘤发生的分子机制也就不完全清楚。因此，阐明正常细胞如何转变成肿瘤细胞以及肿瘤细胞如何逃脱机体的免疫监控是揭开肿瘤发生奥秘的关键步骤。

首先，现在越来越多的证据表明，肿瘤发生与遗传变异和表观遗传变异密切相关。在这方面最典型的例子应该是抑癌因子 p53[1]。编码人 p53 的基因称*TP53* 。早期人们认为 p53 是一种肿瘤抗原。直到 20 世纪 80 年代后期，科学家发现它是一种抑癌因子，它能抑制肿瘤细胞生长、阻断细胞周期进程、促进细胞凋亡。有趣的是，*TP53* 突变在人类多种肿瘤中被发现。令人惊奇的是，在卵巢癌、结肠癌等肿瘤中*TP53* 突变率高达 50%～70%，表明突变型的 p53 在正常细胞转化为肿瘤细胞过程中起重要作用[2]。除了 p53 外，PTEN 是肿瘤发生中另一个关键蛋白。1997 年，*PTEN* 是以一种抑癌基因被鉴定的。PTEN 既是蛋白又是脂类的磷酸酶，它使 PIP3 去磷酸化而成为 PIP2。因此，PTEN 是 PI3K 的拮抗物，抑制 PI3K/AKT 信号转导通路的活化，这是 PTEN 抑癌的重要机制之一[3]。有趣的是，现在发现 *PTEN* 突变型或表达异常现象广泛存在于人类多种肿瘤中，特别在实体瘤。就目前资料统计，在肿瘤中 *PTEN* 突变的发生率仅次于 p53，表明它在肿瘤发生中起关键作用。

在人类肿瘤中较常发现的突变基因还有 *RAS* 家族、*Pim-1*、*PIK3CA*、*AKT* 等数十种基因[4-8]。大约在 20%的人类肿瘤中存在 *RAS* 家族三个成员（*KRAS*、*HRAS*、*NRAS*）之一的突变型[4]。近年来研究发现在弥漫性大 B 细胞淋巴癌

（diffuse large B cell lymphoma，DLBCL）病例中，超过 50％的病人癌细胞基因组中含有*Pim-1* 基因编码区突变，表明 Pim-1 与 DLBCL 的发生密切相关[6,7]，而 DLBCL 是最主要的淋巴癌。此外，遗传变异还包括 DNA 缺失、获得、扩增、染色体移位等导致的癌基因活化或抑癌基因失活。这些遗传变异的多数后果是促进肿瘤细胞增殖、抵抗细胞凋亡。现在，我们需要回答的问题是：①引起遗传变异的原因与机理是什么？这是阐明肿瘤发生、发展机理的重要突破口；②一个基因的活化或失活是不足以导致肿瘤发生的。那么，是什么因素协同作用使正常细胞转变成癌细胞？回答这个问题需要从特定肿瘤细胞全基因组水平上阐明遗传变异和表观遗传变异的整体情况[8]，发现规律，从而找出未知的线索。

虽然在肿瘤发生、发展过程中激活细胞增殖与抗细胞凋亡两种信号通路至关重要，但是逃脱机体的免疫监控也是最关键的环节之一。关于机体免疫系统是否调节肿瘤发育这个问题已经争论了一个世纪。近 50 年来，争论的焦点主要集中在肿瘤的免疫监控。20 世纪 50 年代后期，Burnet 和 Thomas 等首先提出肿瘤免疫监控的假说。该假说争论的焦点是机体免疫系统是否将肿瘤视为“外来物”从而对肿瘤产生免疫应答并清除肿瘤细胞？这一研究领域的最重大突破之一是黑色素瘤特异抗原 MAGE-1 的鉴定与*MAGE-1* 基因的克隆[9]，并发现该抗原可以在体外刺激特异性的 T 细胞。肿瘤特异性 T 细胞体外刺激后活化与增殖的成功，使之在临床治疗方面的应用成为可能[10]。

肿瘤免疫学研究的主要热点之一是肿瘤抗原的分离与鉴定。肿瘤抗原可以简单地分为两大类：肿瘤特异性抗原（tumor-specific antigen）和肿瘤相关抗原（tumor-associated antigen)。肿瘤特异性抗原是肿瘤细胞所特有的、在正常细胞中不存在的一类分子，如在肿瘤细胞中由于基因突变产生的蛋白；肿瘤相关抗原是在肿瘤细胞中异常地高表达或特异性修饰的分子，这类分子在正常细胞中也存在。在由病毒引起的肿瘤中，病毒抗原则是肿瘤抗原，如 HPV 的*E6* 、*E7* 基因编码的产物。虽然现在已发现的肿瘤抗原肽有 100 多种，但是筛选有临床意义的肿瘤抗原则是一个很大的挑战。

虽然肿瘤中存在肿瘤抗原，但是肿瘤是否具有免疫原性呢？近年来许多研究结果对这一问题做出了正面的回答[11]。那么，肿瘤细胞如何逃脱机体的免疫排斥而能在体内存活下来呢？免疫系统与肿瘤组织的相互作用过程称为肿瘤免疫校正（cancer immunoediting)[12]。肿瘤免疫校正过程产生三种结果：①肿瘤细胞被清除；②肿瘤平衡（cancer equilibrium)。肿瘤平衡是一个免疫选择的过程，即免疫原性弱的肿瘤细胞存活下来；③肿瘤细胞逃逸，即肿瘤细胞逃脱免疫排斥而存活下来。肿瘤细胞又是如何逃逸的呢？科学家普遍认为，肿瘤细胞的遗传变异，如肿瘤抗原编码基因突变从而避开免疫系统的识别是肿瘤细胞逃逸的机制之一。肿瘤组织也可以产生抑制免疫功能的物质，如 TGF-β、免疫抑制酶 IDO 等，从而逃脱免疫

监控。此外，肿瘤微环境中的调节性 T 细胞、白介素 10 等也在肿瘤细胞逃脱免疫排斥中起重要作用。然而，肿瘤细胞逃逸的机理仍不完全清楚，依然是生命科学的重要难题。

参 考 文 献

［1］ Brosh R，Rotter V. When mutants gain new powers：news from the mutant p53 field. Nat Rev Cancer，2009，9（10）：701-713

［2］ Vousden KH，Prives C. Blinded by the light：the growing complexity of p53. Cell，2009，137（3）：413-431

［3］ Hill R，Wu H. PTEN，stem cells，and cancer stem cells. J Biol Chem，2009，284（18）：11755-11759

［4］ Downward J. Cancer：a tumour gene's fatal flaws. Nature ，2009，462（7269）：44-45

［5］ Carpten JD，Faber AL，Horn C，et al. A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. Nature，2007，448（7152）：439-444

［6］ Pasqualucci L，Neumeister P，Goossens T，et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. Nature，2001，412（6844）：341-346

［7］ Deutsch AJ，Aigelsreiter A，Staber PB，et al. MALT lymphoma and extranodal diffuse large B-cell lymphoma are targeted by aberrant somatic hypermutation. Blood，2007，109（8）：3500-3504

［8］ Weir BA，Woo MS，Getz G，et al. Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. Nature，2007，450（7171）：893-898

［9］ van der Bruggen P，Traversari C，Chomez P，et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science，1991，254（5038）：1643-1647

［10］ Finn OJ. Cancer immunology. N Engl J Med，2008，358（25）：2704-2715

［11］ Ji H，Houghton AM，Mariani TJ，et al. K-ras activation generates an inflammatory response in lung tumors. Oncogene，2006，25（14）：2105-2112

［12］ Smyth MJ，Dunn GP，Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting：the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. Adv Immunol，2006，90：1-50

撰稿人：陈吉龙

中国科学院微生物研究所

审稿人：高光侠　李　蓬

宿主细胞如何识别病毒并产生Ⅰ型干扰素来抗病毒？病毒又如何破坏宿主的干扰素反应？

How Host Cells Recognize Viruses and Produce Interferon Ⅰ to Resist Virus? How Viruses Destroy the Interferon Reaction of Host Cells?

哺乳动物细胞一旦被病毒感染，会产生多种Ⅰ型干扰素来抗病毒[1]。Ⅰ型干扰素可分为多个亚型，它的表达能被多个信号通路诱导，而这些信号通路的激活则有赖于激活 Toll-like 受体或细胞质内病毒识别受体，例如 RIG-Ⅰ、MDA5[2]。具体通过哪种受体激活则是由感染病毒的种类以及被感染细胞的类型共同决定的。Ⅰ型干扰素能与它的受体结合，激活下游的 JAK/STAT 信号通路，从而诱导一系列基因的表达，从而抑制病毒的复制。另一方面，在病毒与宿主长期的共进化过程中，病毒也进化出多种策略来抑制干扰素的表达及宿主细胞的干扰素反应。例如，肝脏细胞可以通过 RIG-Ⅰ识别感染丙型肝炎病毒（HCV）的 RNA，从而诱导干扰素的表达来抑制 HCV 的感染[3,7]。HCV 编码的 NS3/4A 蛋白能切割 RIG-Ⅰ受体下游的一个信号分子，从而阻断Ⅰ型干扰素的诱导表达。另外，HCV 编码的 CORE、NS4B 等蛋白能够通过抑制 STAT1 从而阻断干扰素的信号转导通路。

尽管很多年来在临床上一直使用干扰素来治疗多种病毒感染，但是干扰素抑制病毒复制的详细机制还有待进一步研究。已经知道干扰素能诱导几百个基因的表达，但我们对这些被诱导表达的基因如何参与抗病毒过程的了解还非常有限。在这些被诱导表达的基因中，有些基因具有较广谱的抗病毒作用，如*2’，5’-OAS*、*PKR* 等；有的基因只针对某些病毒，例如*APBEC3G* 能够抑制逆转录病毒，*ZAP* 能够抑制 HIV 和埃博拉病毒等。大多数干扰素诱导表达的基因的抗病毒机制还不清楚。最近的研究表明，除了抑制感染病毒的复制，干扰素还参与其他多种生命过程。未来的研究还应该着力了解干扰素的其他功能，包括它在抗细菌过程中的作用[4]，在宿主炎症反应包括自身免疫疾病中的作用[5]，以及在宿主新陈代谢例如药物代谢中的作用[6]。

参考文献

［1］ Grandvaux N，et al. The interferon antiviral response：from viral invasion to evasion. Curr Opin Infect Dis，2002，15（3）：259-267

［2］ Doyle S E，Vaidya S A，O’Connell R，et al. IRF3 mediates a TLR3/TLR4-specific antiviral gene program. Immunity，2002. 17：251-263

［3］ Yoneyama M，et al. The RNA helicase RIG-I has an essential function in double-stranded RNA-induced innate antiviral responses. Nat Immunol，2004，5（7）：730-737

［4］ O’Connell RM，Saha SK，Vaidya SA，et al. Type I Interferon production enhances susceptibility to Listeria monocytogenes infection. J Exp Med，2004，200：437-445

［5］ Chow EK，Castrillo A，Shahangian A，et al. A role for IRF3-dependent RXRalpha repression in hepatotoxicity associated with viral infections. J Exp Med，2006，203（12）：2589-2602

［6］ Guo B，Chang EY，Cheng G. The type I IFN induction pathway constrains Th17-mediated autoimmune inflammation in mice. Journal of Clinical Investigation，2008，118：1680-1690

［7］ Saito T，et al. Innate immunity induced by composition-dependent RIG-I recognition of hepatitis C virus RNA. Nature，2008，454（7203）：523-527

撰稿人：程根宏

中国科学院生物物理研究所

审稿人：高光侠　李　蓬

激活原生肿瘤内的免疫活性能否用来治疗转移的肿瘤？

Target Primary Tumor Tissues to Generate Immune Cells to Clear Metastasis

早先的观点认为，肿瘤的免疫原性较弱，因此在免疫系统健全的病人中，由于缺乏可识别的抗原，肿瘤不会引起明显的免疫反应。然而，最新的研究结果表明，肿瘤的生长需要突变多个关键的蛋白，而这些突变的蛋白可以成为肿瘤特异性的抗原。因此，人类的许多肿瘤都是具有免疫原性的，而且在肿瘤内可发生显著的免疫浸润。T 细胞免疫浸润意味着免疫系统对肿瘤的识别。更重要的是，T 细胞，尤其是 CD8 阳性的 T 细胞，对肿瘤的浸润往往伴随着更好的预后[1-3]。在动物模型中，放射线照射肿瘤产生的疫苗能够抑制同种未经放射线照射的肿瘤的生长，而且这种抑制作用依赖于 T 细胞。

然而在大多数病例中，尽管对肿瘤细胞有充分的免疫识别，T 细胞的功能也是健全的，免疫系统还是不能有效地清除肿瘤。因此，单纯对肿瘤抗原的识别并不能有效地清除已经发生的恶性肿瘤[3-6]。这种免疫清除的失败可能是由于免疫系统无法浸润到肿瘤抑制性的基质环境中。肿瘤可以逐步建立免疫屏障来抑制 T 细胞的活化，减少免疫浸润，并失活浸润的 T 细胞[3,7-9]。在模式动物中的试验以及临床研究都表明，免疫系统能有效地识别肿瘤抗原并杀死肿瘤。但是还不清楚为什么免疫系统对肿瘤抗原的识别本身并不足以杀死已经发生的恶性肿瘤。许多因素都有可能是宿主免疫系统对肿瘤清除失败的原因。这些因素包括：①发生转移的肿瘤（尤其非造血系统来源的肿瘤），肿瘤细胞的数目还不够多，因此无法有效地向淋巴组织进行直接或间接的抗原呈递，从而导致早期 T 细胞活化的失败；②由于肿瘤组织外周的生理屏障，导致进入肿瘤组织的免疫细胞的数量不够多；③抗原特异性 T 细胞的耗尽或较短时间的激活，使得其无法有效地抑制肿瘤的生长；④肿瘤组织抑制性的微环境缺乏对免疫细胞，尤其是 T 细胞的有效激活，有利于肿瘤的生长。

规避肿瘤的抑制环境和在临床上增强 T 细胞对肿瘤组织的浸润都能产生更好的预后。先前的研究表明，预防性的疫苗能够有效地清除接种的肿瘤细胞。但是一旦肿瘤发生，尽管肿瘤免疫活性在外周淋巴组织中依然存在，治疗性疫苗依然无法清除肿瘤。而且，作为肿瘤疫苗的原料，很难在体外培养来自肿瘤病人的单一肿瘤。另外，即使表达具有较强免疫原性的肿瘤抗原，也不足以有效地清除已经发生的肿瘤。因此，尽管在淋巴组织中存在大量的抗原特异性 T 细胞，但 T 细胞无法

有效地活化以及活化的 T 细胞无法进入肿瘤是天然或治疗性抗肿瘤的主要障碍。

因此，我们有下面几个重要的问题需要回答：①提高肿瘤组织中次级淋巴组织的趋化因子和黏附分子的表达量，能否吸引更多的 T 细胞、NK 细胞、树突状细胞来清除肿瘤？②原生肿瘤能否作为活性疫苗，诱导产生细胞毒性 T 淋巴细胞来清除转移的肿瘤？③如何在原生肿瘤内诱导产生强烈免疫反应来清除肿瘤的微小转移灶？④ 能否保留原生肿瘤以作为肿瘤特异性抗原的来源，从而产生足够的 T 细胞免疫活性来清除微小转移灶？

在临床上，可以通过外科手术或者局部放射治疗的方法来清除原生肿瘤，因此大多数肿瘤病人的死因并非由于原生肿瘤，而是由于肿瘤多年后发生的转移。外科手术切除肿瘤后，仅有 2～5 个肿瘤细胞会残留。这些残留的肿瘤细胞可以潜伏几个月甚至几年，直到他们发生转移并长出新的肿瘤。从概念上讲，我们需要关注的是如何产生针对转移小灶，尤其是潜伏期的转移小灶的免疫反应。就如何实现这一点，以下的几个方面值得考虑：①我们需要发展新的方法来治疗发生远程肿瘤转移的病人；②原生肿瘤块应该被保留下来作为肿瘤抗原的来源；③我们需要确定一种治疗方法，该方法应该能够最大程度地减轻病人的肿瘤负担同时能保证激活足够的免疫反应。

局部的放化疗能有效地针对局部肿瘤进行治疗[10,11]。局部的放化疗与免疫治疗相结合，原生肿瘤能够被限制在原发部位，同时这些被限制的原生肿瘤可以作为活性疫苗来诱导产生足够的 T 细胞反应，从而清除肿瘤的微小转移灶[12]。尽管这种联合治疗方法能够限制某些肿瘤的生长，但大多数肿瘤在治疗后的几周或几个月内会重新生长。由于从原生肿瘤释放的肿瘤细胞具有较强的转移活性，因此选择合适的时间通过局部治疗或外科手术来清除原生肿瘤是一个很大的挑战。

参 考 文 献

［1］ Clemente C G，M C Mihm，Jr. R Bufalino，et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. Cancer，1996，77：1303-1310

［2］ Zhang L，J R Conejo-Garcia，D Katsaros，et al. Intratumoral T cells，recurrence，and survival in epithelial ovarian cancer. N Engl J Med，2003，348：203-213

［3］ Yu P，Y X Fu. Tumor-infiltrating T lymphocytes：friends or foes? Lab Invest，2006，86：231-245

［4］ Schreiber H. Tumor Immunology. In Fundamental Immunology，4th ed. W E Paul. New York：Lippincott Raven Press，1999，1247-1280

［5］ Rosenberg S A. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. Nature ，2001，411：380-384

［6］ Zinkernagel R M. Immunity against solid tumors? Int J Cancer ，2001，93：1-5

[7] Ochsenbein A F, P Klenerman, U Karrer, et al. Immune surveillance against a solid tumor fails because of immunological ignorance. Proc Natl Acad Sci USA , 1999, 96: 2233-2238
[8] Curiel T J, G Coukos, L Zou, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. Nat Med, 2004, 10: 942-949
[9] Singh S, S R Ross, M Acena. Stroma is critical for preventing or permitting immunological destruction of antigenic cancer cells. J Exp Med, 1992, 175: 139-146
[10] Yu P, Y Lee, W Liu, et al. Priming of naive T cells inside tumors leads to eradication of established tumors. Nat Immunol, 2004, 5: 141-149
[11] Lee Y, S L Auh, Y Wang, et al. Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require $CD8^+$ T cells: changing strategies for cancer treatment. Blood , 2009, 114: 589-595
[12] Yu P, Y Lee, Y Wang, et al. Targeting the primary tumor to generate CTL for the effective eradication of spontaneous metastases. J Immunol , 2007, 179: 1960-1968

撰稿人：付阳心
中国科学院生物物理研究所
审稿人：高光侠　李　蓬

免疫系统为什么只对极少数蛋白质抗原序列产生强烈应答（免疫优势）？

Why Immune System Produces Strong Response Only to a few Peptides among Many Protein Antigens (immune dominance)?

免疫系统是机体识别自我-非自我的防御系统，当外来入侵者侵入体内，即诱发机体产生特异性细胞与体液免疫应答。但免疫系统仅对入侵者的少数蛋白质序列产生强烈的免疫反应，而对外来蛋白质的大部分序列熟视无睹，或产生微弱的免疫应答。这种针对蛋白质抗原的特定序列选择性 T 细胞应答的现象，叫做免疫优势[1-3]。

1974 年，两位诺贝尔奖获得者 Zinkernagel 和 Doherty 首次发现 MHC 分子与 T 细胞的免疫识别密切相关[4]。10 年后，Townsend 揭示这种 MHC 的相关性是由 MHC 分子结合抗原多肽，并呈递至抗原加工细胞表面而实现的，并报道了第一个 MHC Ⅰ类抗原的多肽表位[5]。他同时指出，就某一特定的 MHCⅠ类分子而言 T 细胞的特异性应答仅限于外来蛋白质抗原的一种多肽，这一多肽应该是后来所说的优势表位。

T 细胞针对优势表位的应答取决于两个因素：①提供丰富的多肽 MHC 复合物的抗原呈递细胞，如树突状细胞；②载有可与多肽 MHC 复合物结合的 T 细胞受体的原始 T 淋巴细胞（naive T cell）。

提供特异性多肽复合物的抗原加工呈递过程对优势表位的 T 细胞应答显然起着至关重要的作用。降解蛋白质形成多肽的蛋白酶体[6]和多肽与 MHC 分子亲和力[7]及锚定残基[8]均可影响优势表位的选择。最新的试验证据还证实，多肽与 TAP 分子（抗原加工相关分子转肽酶）的结合能力，多肽能否被 ERAAP（内质网氨基端氨基切割酶）切割和优势多肽的选择密切相关[9]。

另外一个在优势表位的选择过程中起决定作用的因素是体内预先存在的原始 T 淋巴细胞的数量及其携带 T 细胞受体的种类。使用转有少量 T 细胞受体的转基因鼠的试验结果表明，表达 T 细胞受体的 T 细胞的数量及 T 细胞受体的种类可深刻影响优势表位的选择[10]。已有报道证实抗原量及前体 T 细胞的频率均可影响 T 细胞表位的排名[11]。

专职抗原加工与呈递细胞及细胞因子在选择优势表位过程中想必起一定作用，但直接证据报道不多。同样，呈递至抗原呈递细胞表面的 MHC 分子与多肽复合物数量、质量与优势表位选择的相关性有待进一步研究。

免疫优势现象显然由宿主与病原体之间相互作用的诸多因素决定。解决其精确的作用机制，对指导疫苗的研制、阐述自身免疫病的发病机理及肿瘤的免疫治疗至关重要。

参 考 文 献

［1］ Sercarz E，G Gammon，M Palmer. T cell dominance and the vaccine problem：modifying effects on immunogenicity by residues at a distance from the site of T cell recognition. Semin Immunol，1990，2（5）：297-305

［2］ Sercarz E E，et al. Dominance and crypticity of T cell antigenic determinants. Annu Rev Immunol，1993，11：729-766

［3］ Yewdell J W，J R Bennink. Immunodominance in major histocompatibility complex class I-restricted T lymphocyte responses. Annu Rev Immunol，1999，17：51-88

［4］ Zinkernagel R M，P C Doherty. Restriction of *in vitro* T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. Nature，1974，248（450）：701-702

［5］ Townsend A R，et al. The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes can be defined with short synthetic peptides. Cell，1986，44（6）：959-968

［6］ Niedermann G，et al. Contribution of proteasome-mediated proteolysis to the hierarchy of epitopes presented by major histocompatibility complex class I molecules. Immunity，1995，2（3）：289-299

［7］ Kozhich A T，et al，Immunogenicity and immunopathogenicity of an autoimmune epitope are potentiated by increasing MHC binding through residue substitution. J Immunol，1997，158（9）：4145-4151

［8］ Chen W，et al. Determinant selection of major histocompatibility complex class I-restricted antigenic peptides is explained by class I-peptide affinity and is strongly influenced by non-dominant anchor residues. J Exp Med，1994，180（4）：1471-1483

［9］ Tenzer S，et al. Antigen processing influences HIV-specific cytotoxic T lymphocyte immunodominance. Nat Immunol，2009，10（6）：636-646

［10］ Daly K，et al. Immunodominance of major histocompatibility complex class I-restricted influenza virus epitopes can be influenced by the T-cell receptor repertoire. J Virol，1995，69（12）：7416-7422

［11］ La Gruta，et al. A virus-specific $CD8^+$ T cell immunodominance hierarchy determined by antigen dose and precursor frequencies. Proc Natl Acad Sci U S A，2006，103（4）：994-999

撰稿人：高　斌　刘长振

中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室

审稿人：高　福　范　明

“坏基因”*HLA-B27* 怎样促使强直性脊柱炎发生？

How does a Bad Guy “*HLA-B27* ” Cause Ankylosing Spondylitis?

虽说先天基础因素“遗传基因”不能完全决定人的生理表现、行为以及可能所患的疾病，但上述人的外在表现之下或多或少都隐含着遗传基因的作用结果。就如父母身材矮小子女通常长得不高一样，遗传了 *HLA-B27* 基因也通常意味着这个人比其他人具有高出 100 倍患强直性脊柱炎的可能性。研究表明，在全世界范围内，90%～95%的强直性脊柱炎呈 *HLA-B27* 阳性。这种相关性早在 1973 年就被发现，并且已被成功地应用于强直性脊柱炎早期诊断中。然而时至今日，*HLA-B27* 基因促使强直性脊柱炎发生的致病机制至今仍不清楚。这已经成为免疫学领域的一大悬案。

人类白细胞抗原（human leukocyte antigen，HLA）系统即人的主要组织相容性复合体（MHC），是第 6 号染色体短臂上的一组由 200 个以上基因座位组成的基因复合体。其编码产物为多个等位基因经排列组合后合成的糖蛋白，分布在细胞表面，具有极高的等位基因多态性，是人体生物学“身份证”，能识别“自己”和“非己”物质，并通过免疫反应排除“非己”。HLA 根据功能大致分为三类：HLA Ⅰ型、HLAⅡ型、HLA Ⅲ型，HLA-B27 属于 HLAⅠ型。作为人体免疫系统的重要组成部分，HLA 在消除病原微生物、抗肿瘤以及器官移植等方面至关重要，而研究表明其多态性与许多疾病的遗传易感性之间具有明显的相关性。在这些相关性中，HLA-B27 与强直性脊柱炎的相关性是最高的，也是最著名的。

与其他 HLAⅠ型编码的抗原分子一样，HLA-B27 的编码产物与 β_2-微球蛋白和一段抗原多肽（一般由 8～10 个氨基酸组成）形成一个三聚体复合物，用于与特异的 T 细胞受体相互识别、结合并激活 T 细胞受体介导的下游信号通路，行使其生理功能。那么是什么存在于 HLA-B27 与其他 HLAⅠ型之间的差异，造成了它们在与强直性脊柱炎相关性上的截然不同呢？研究者在发现 HLA-B27 与强直性脊柱炎强相关性的初期，即把研究目标定位在 HLA-B27 与其他 HLAⅠ型之间编码序列以及结合抗原多肽的差异上。而如此明显的科研现象提示，也使得一些研究者们乐观地认为强直性脊柱炎的病因将会很容易揭晓。然而 30 多年过去了，研究者们也提出了近十种致病机制假说，如 HLA-B27 可特异性呈递与脊椎关节病相关的表位多肽；HLA-B27 与致病菌，如克雷伯氏菌的蛋白有相同氨基酸序列从而被相应的抗体识别引起自身免疫反应（分子模拟学说）；HLA-B27 衍生的肽段可被呈递给 $CD4^+$ T 细胞；HLA-B27 是细菌来源的配体的受体等，但这些理论都尚不足以

解答强直性脊柱炎的病因及发病机制。

1999 年一个重要的现象被发现——在已知的三聚体复合物结构之外，HLA-B27 分子还可以形成一种独特的同源二聚体结构（图 1）[1, 2]。研究者认为这是由两个 HLA-B27 分子的第 67 位半胱氨酸形成二硫键所链接而成的二聚体结构，在该结构中不存在三聚体复合物中的 β_2-微球蛋白。该现象似乎使研究者在致病机制探索道路上又迈进了一步。然而，随后对该结构在强直性脊柱炎致病机制中重要性的研究却存在很大的争议。一些研究者持有 HLA-B27 同源二聚体结构导致疾病出现这一观点。他们发表文章认为，HLA-B27 同源二聚体可能与某些受体，如杀伤细胞免疫球蛋白样受体（killer Ig-like receptor，KIR）和白细胞免疫球蛋白样受体（leukocyte Ig receptor，LIR）等结合从而促发炎症反应，或是通过模拟 HLA Ⅱ类分子激活 $CD4^+$ T 细胞从而促发疾病发生等。另一些研究者却对这一观点表示怀疑。他们认为 HLA-B27 同源二聚体结构更可能是一种在人工环境下存在的现象，或是现在还没有足够的证据证明该结构与强直性脊柱炎的发病有直接相关性。

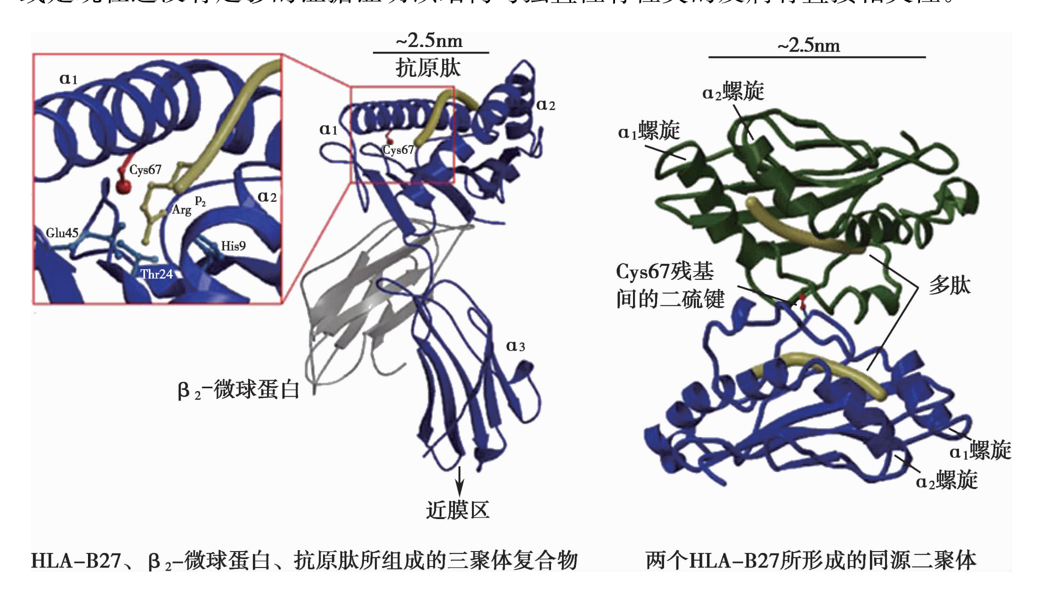


图 1　由 HLA-B27、β_2-微球蛋白、抗原肽所组成的三聚体复合物以及 HLA-B27 同源二聚体结构示意图[1]

另外一个对于 HLA-B27 的致病机制研究无法回避的现象是 HLA-B27 分为 20 多种亚型，研究者现已发现一些亚型如 HLA-B2702、HLA-B2704、HLA-2705 等与强直性脊柱炎具有强相关性，而另一些亚型如 HLA-B2706、HLA-B2709 等具有弱相关性或不相关[3]。这些亚型虽然表现出差别如此大的疾病相关性，然而它们之间的氨基酸序列差异却很小，如 HLA-B2704、HLA-B2705 与 HLA-B2706 仅有两

个氨基酸的差别，而与 HLA-B2709 仅有一个氨基酸的差别。这一现象虽不会否定现有的 HLA-B27 致病机制假说，但对这些理论而言都是难以阐释清楚的。

虽然强直性脊柱炎的患者中 90%～95%呈 HLA-B27 阳性，但是它并不是单基因病。最近的研究又揭示了除 HLA-B27 之外的三类与强直性脊柱炎病因有关的基因：白介素-1 基因簇（IL-1 cluster）、ARTS1/ ERAP1（aminopeptidase regulator of TNFR1 shedding）、白介素-23 受体（interleukin-23 receptor，IL-23R）[4]。这说明强直性脊柱炎病因不会仅局限于 HLA-B27 这一种致病因素，它应该是 HLA-B27 与许多其他因素相互作用的综合结果，具有一个复杂的、受多因素调控的过程。就如很多科学难题一样，强直性脊柱炎致病机制的研究者们发现当他们解决了一个难点进入一个新研究领域时，更多的疑难问题已摆在他们眼前。对 HLA-B27 如何促使强直性脊柱炎发生的致病机制已研究了 37 年，未来还需要多少年呢？

参 考 文 献

［1］ Bowness P，Zaccai N，Bird L，et al. HLA-B27 and disease pathogenesis：new structural and functional insights. Expert Rev Mol Med，1999，1-10

［2］ Allen R L，O’ Callaghan C A，McMichael A J，et al. Cutting edge：HLA-B27 can form a novel beta 2-microglobulin-free heavy chain homodimer structure. J Immunol，162：5045-5048

［3］ Hulsmeyer M，Hillig R C，Volz A，et al. HLA-B27 subtypes differentially associated with disease exhibit subtle structural alterations. J Biol Chem，277：47844-47853

［4］ Pham T. Pathophysiology of ankylosing spondylitis：what’s new? Joint Bone Spine，2008，75：656-660

撰稿人：高 斌 刘长振

中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室

审稿人：高 福 范 明

通用流感疫苗为什么难制备？人类能有一针有效流感疫苗吗？

Why Universal Influenza Vaccine is Produced Hardly? Would Human have "Once and Effective" Influenza Vaccine?

流感是人们最熟悉，也是最头疼的疾病之一。为了预防流感，人们不得不每年进行流感疫苗的免疫接种。那么，为什么流感疫苗不能像其他一些传染病疫苗如乙肝疫苗一样可以数年免疫一次或者像天花疫苗一针而终生免疫呢？有没有一种通用流感疫苗可以预防流感呢？理论上讲，有朝一日科学家可能找到一种通用疫苗，激发机体广泛的针对流感病毒的免疫应答，但这种免疫原是什么？如何激发？需要研究来寻找。

要回答这个问题，我们首先必须搞清楚流感病毒的种类和结构，以了解其容易发生变异的原因。流感病毒在分类上属正黏病毒科，主要有甲（A）、乙（B）、丙（C）三型，均可引起人和动物（猪、马、海洋哺乳动物和禽类等）流行性感冒[1]。其中 A 型流感病毒是引起人类流感流行的最主要的祸患，B 型对人致病性较低，C 型只引起不明显或较轻的上呼吸道感染，很少造成流行。流感病毒基因组是分节段的单股、负链 RNA。A 型、B 型流感病毒基因组有 8 个基因片段，分别编码血凝素（HA）、神经氨酸苷酶（NA）、非结构蛋白（NS）、聚合酶（PB1，PB2，PA）、核蛋白（NP）和基质蛋白（M）等 11 种蛋白，而 C 型因缺少一个编码神经氨酸苷酶的片段，仅有 7 个基因片段。流感病毒出现变异的主要原因也正是由于它的基因组分为多个片段，病毒在复制和增殖时，不同毒株间易产生基因重配（也叫重排）（片段交换），从而出现新亚型或者抗原变异的流感病毒（抗原转换），往年机体免疫系统所产生的抗体对变异的病毒基本无抵抗力。根据流感病毒表面的两个糖蛋白 HA 、NA 的抗原特异性，可将 A 型流感病毒进一步分为多种亚型，包括 HA 的 16 个亚类（ HA1～HA16）和 NA 的 9 个亚类（N1～N9）。除了片段交换引起的抗原转换以外，同一片段的基因在免疫压力或其他条件下也会发生基因点突变，从而导致抗原飘移，同样会使疫苗无效或效果差。由于每年流行的流感，几乎都是由明显不同的毒株所引起的，因此人们不得不年年接种流感疫苗，以预防新出现的变异流感毒株。

既然如此，为什么不设计一种人畜禽通用的流感疫苗，使之能够预防所有的流感病毒，至少是一种比较盛行的流感病毒家族？这也是很多科学家多年来一直在思考并努力去解决的问题。大家知道，我们当前使用的流感疫苗是（裂解）灭活疫

苗，主要成分是流感病毒 HA 抗原，由于流感病毒，特别是其 HA 极易发生变异，要想解决这个难题，必须找到对各型流感病毒均比较有效的免疫原。目前，研究人员关注的热点在找其他蛋白作为免疫原的机会，如流感病毒 M2 蛋白的胞外区域——M2e。M2e 由 23 个氨基酸残基组成，与 HA、NA 不同，流感病毒 M2e 的氨基酸序列高度保守。自从 1933 年首次分离到流感病毒以来，尽管经历了四次世界性大流行（有些说法是三次大流行，即 1918 年西班牙流感、1957 年亚洲流感和 1968 年香港流感。如果说四次，即包括 1977 年俄罗斯流感）和无数次的小流行，但 M2e 蛋白的氨基酸序列却几乎未发生变异[2]。可以说，M2e 蛋白对 A 型流感病毒是高度保守的。虽然流感患者中只有少部分能检测到 M2e 抗体，但 M2e 的抗血清确实有抑制流感病毒复制的功能，而且将 M2e 辅以合适的载体或佐剂后，便可诱发高效价的抗体反应，极大地提高机体对流感病毒的免疫力[3-6]。因此，人们认为 M2e 分子也是流感病毒的一种保护性抗原，并作为研制通用流感疫苗的候选抗原。目前，已有很多以 M2e 为基础构建的通用流感疫苗的报道，而且也有一些生物技术公司着手研制开发 M2e 疫苗[7-11]。2008 年，英国的 Acambis 生物技术公司研制的 M2e 通用流感疫苗已经进行了人体的Ⅰ期临床试验。结果证明，M2e 疫苗有良好的耐受性和免疫原性，接种后有 90%的人产生了抗体，而且没有明显的副作用[12,13]。

尽管研制通用流感疫苗从理论上讲是可行的并且拥有巨大的市场潜力，在实际的临床试验中也取得了不错的结果，但这并不代表通用流感疫苗近年内很快就可以研制成功。目前的 M2e 通用流感疫苗只是进行了小范围的临床试验，要想证明疫苗真正有效还需要很长时间，现在还没有通用流感疫苗进一步的临床试验报道。另外，当前的 M2e 通用流感疫苗还存在许多问题：第一，通用疫苗的保护效果还有待于提高，这也是当前研制通用流感疫苗最难解决的难题，目前还没有一种通用流感疫苗能够有效预防所有不同亚型流感病毒引起的流感；第二，基于 M2e 的通用流感疫苗仅能够预防 A 型流感病毒，而不包括 B 型流感病毒。尽管没有大流感是由 B 型流感病毒造成的，但是在流感季节它们也会感染人群，给人们带来使身体非常不适的疾病；第三，由于 M2e 自身的免疫原性较低，因此需要通过添加佐剂来增强其免疫效力。这些佐剂的安全性和有效性仍需进一步进行临床研究；第四，目前的通用流感疫苗主要是基于流感病毒的 M2e 蛋白，前提就是今后其仍然保持较低的突变率。一旦通用疫苗大量使用之后，由于免疫选择压力的影响使得 M2e 出现了突变，那么通用流感疫苗也就失去了保护效果。

总之，虽然我们已经看到了一线曙光，但人类要想研制出切实有效的通用流感疫苗，依然任重而道远。然而，科学家们正在朝着这个方向努力，争取有朝一日制造出能够“一劳永逸”的通用流感疫苗，从容应对流感。

参考文献

[1] 宋晓晖，胡旭东，马素芳，等．动物源性流感病毒与人流感流行．科技导报，2009，27(9)：19-24

[2] Ito T，Gorman OT，Kawaoka Y. Evolutionary analysis of the influenza A virus M gene with comparison of the M1 and M2 proteins. J Virol，1991，65 (10)：5491-5498

[3] Wanli L，Peng Z，Jian D，et al. Sequence comparison between the extracellular domain of M2 protein human and avian influenza A virus provides new information for bivalent influenza vaccine design. J Microbiology and Infection，2005，7：171-177

[4] Black TA，Tota PA，Gorodkova N，et al. Production of the M2 protein of influenza virus in insect cells is enhanced in the presence of amantadine. J Gen Virol，1993，74 (8)：1673-1677

[5] Treanor JJ，Tierney EL，Zebedee SL，et al. Passively transferred monoclonal antibody to the M2 protein inhibits influenza A virus replication in mice. J Virol，1990，64 (3)：1399-1402

[6] Neirynck S，Deroo T，Saelens X，et al. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. Nat Med，1999，5：1119-1120

[7] Sabine N，Tom D，Xavier S，et al. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. Nat Med，1999，5 (10)：1157-1163

[8] W Fiers，M De Filette，A Birkett，et al. A "universal" human influenza A vaccine. Virus Research，2004，103：173-176

[9] Marina De F，Anna R，Ashley B，et al. The universal influenza vaccine M2e-HBc administered intranasally in combination with the adjuvant CTA1-DD provides complete protection. Vaccine，2006，24：544-551

[10] Jiang F，Xiaoping L，Melanie S H，et al. Preclinical study of influenza virus A M2 peptide conjugate vaccines in mice，ferrets，and rhesus monkeys. Vaccine，2004，22：2993-3003

[11] Marina De F，Willy M J，Ashley B，et al，Universal influenza A vaccine：optimization of M2-based constructs. Virology，2005，337：149-161

[12] W Fiers，M De Filette，Karim E B，et al. M2e-based universal influenza A vaccine. Vaccine，2009，27：6280-6283

[13] Michael S，Mariana De F，Walter F，et al. Universal M2 ectodomain-based influenza A vaccine：preclinical and clinical developments. Expert Rev Vaccines，2009，8 (4)：499-508

撰稿人：高　福　刘文波　刘　翟

中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室

审稿人：高光侠　李　蓬

受精卵为什么会在母亲子宫着床而孩子长大后又可能不能移植母亲器官呢？免疫排斥是怎么回事？

Why Zygote can Implant to Uterus but Mother's Organs can not be Implanted to Child? What is Immunological Rejection?

免疫排斥是机体自我保护的重要机制，保证外来物质不侵犯正常人体，监视与清除不需要的物质。但是，当精子与卵子结合形成受精卵后，受精卵要在母体子宫中着床并发育，直到长成一个成熟的个体而分娩。受精卵为什么不被免疫系统排斥？受精卵中母亲带来的一半基因不足以保证它与母亲的免疫系统完全相配，因为当婴儿长大成人后，若需要器官移植，这时母亲的器官未必合适，移植后可能被排斥。这里包含的免疫学机制一直都是个谜，对免疫学家是个挑战。

哺乳动物妊娠的一个最基本的特征是胎盘形成。胎盘形成涉及被称作胎盘种植的一系列事件。在这个过程中，由胎儿胎盘细胞演变而来的滋养细胞向被称为蜕膜的衬于妊娠子宫内壁的母体蜕膜组织侵袭。随着妊娠时间的增加，滋养细胞对母体子宫组织的浸润程度不断增加。胎盘种植过程中滋养细胞浸润而形成了遗传背景不同的胎儿细胞和母体细胞相掺的母胎界面。正是母胎界面免疫调控机制的存在使胎儿在正常情况下不受母体免疫系统的攻击。

20 世纪 50 年代，著名的英国学者 Peter Brian Medawar 提出“胚胎是一个同种异体移植物”的概念。那么，为什么带有来自父方的同种异体基因的滋养细胞不被母体的免疫系统排斥呢？这要从移植免疫排斥的机制谈起。引起免疫免疫排斥反应最主要的原因是移植物带有与受者不同的抗原，其中引起最强烈排斥应答的抗原是主要组织相容性复合体（MHC）分子，人类的 MHC 分子称为人类白细胞抗原（HLA）。当移植物的供体和受体之间 MHC 分子不相合时，受者的 T 细胞表面的 T 细胞受体（TCR）就会识别与供者 MHC 分子的结合的抗原多肽（在此处主要是来自供者 MHC 分子的多肽以及来自受者的不能与受者 MHC 分子结合而不能诱导免疫耐受的多肽），从而引发免疫排斥应答。

然而，近年的研究表明，母胎界面涉及一种崭新的同种识别系统，这个识别系统是由自然杀伤细胞（natural killer cell，简称 NK 细胞）而不是 T 细胞介导的[1]。在胎盘种植区，T 细胞数目甚少，而 NK 细胞是优势细胞群。而且滋养细胞与蜕膜 NK 细胞的解剖关系十分密切，人们普遍认为蜕膜 NK 细胞-滋养细胞之间的相互作用形成母体免疫系统对胎儿的同种抗原识别的细胞基础，也是对胎盘种植实现调控的免疫机制。

NK 细胞表面的受体有多种，其中的两种为杀伤细胞活化性受体（killer activating receptor，KAR）和杀伤细胞抑制性受体（killer inhibitory receptor，KIR）。其识别的配体是 MHC Ⅰ类分子。人类的 MHC Ⅰ类分子即 HLA Ⅰ类分子，分为经典 HLA-Ⅰ（简称 HLA-Ⅰa）和非经典的 HLA-Ⅰ（简称 HLA-Ⅰb），前者包括 HLA-A、HLA-B 和 HLA-C，后者包括 HLA-E、HLA-F 和 HLA-G。侵袭母体组织的人类绒毛外滋养细胞不表达经典的 HLA Ⅰ类分子 HLA-A 和 B，只表达非经典的 HLA-E、F、G 和 HLA-C，其中 HLA-G 与母胎界面的免疫调节机制研究得最为清楚[2]。HLA-G 的表达局限于滋养细胞、胎盘绒毛血管内皮细胞、胸腺上皮细胞和活化的外周血单核细胞，滋养细胞呈高表达。最令人注目的是，$HLA-G^{+}$ 的细胞能抑制半同种异基因的蜕膜 NK 细胞对滋养细胞的溶细胞作用。滋养细胞表面的 HLA-G 可以通过识别 KAR 和 KIR 从而产生正性和负性的信息进而调节细胞因子的产生和 NK 细胞介导的细胞毒作用[3]。

蜕膜 NK 细胞和外周血 NK 细胞可能是两个完全不同的细胞群体，也可能是同一群体经历不同的组织特异性分化[4]。以下机制可以比较合理地解释 NK 细胞-滋养细胞相互作用对胎盘种植实现调控，蜕膜 NK 细胞通过其表面受体 KIR、KAR 和识别表达于侵袭滋养细胞表面的 HLA-G，蜕膜 NK 细胞能产生多种生长因子，例如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF）和转化生长因子（TGF-β），可以通过旁分泌网络调节控制滋养细胞的生长、分化和迁移，从而达到胎盘侵袭和母体抵抗之间的恰如其分的平衡[5]。

最近发现的 HLA-G 的抑制性受体还有 1LT-2 和 ILT-4 等[6-8]，它们都是免疫球蛋白超家族的成员。所有这些证据表明，HLA-G 参与母胎界面的免疫调控。然而关于 HLA-G 参与母胎界面免疫调控的准确机理尚不明确，需要作深入的研究。

参 考 文 献

［1］ Manaster I，Mandelboim O. The unique properties of human NK cells in the uterine mucosa. Placenta，2008，29 Suppl A：S60-66

［2］ Carosella ED，Moreau P，Lemaoult J，et al. HLA-G：from biology to clinical benefits. Trends Immunol，2008，29：125-132

［3］ Apps R，Gardner L，Moffett A. A critical look at HLA-G. Trends Immunol，2008，29：313-321

［4］ Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. Nat Rev Immunol，2002，2：656-663

［5］ Orsi NM. Cytokine networks in the establishment and maintenance of pregnancy. Hum Fertil (Camb)，2008，11：222-230

［6］ Chen Y，Shi Y，Cheng H，et al. Structural immunology and crystallography help immunologists see the immune system in action：how T and NK cells touch their ligands. IUBMB Life，2009，61：579-590

［7］ Allan DS，McMichael AJ，Braud VM. The ILT family of leukocyte receptors. Immunobiology，2000，202：34-41

［8］ Katz HR. Inhibition of inflammatory responses by leukocyte Ig-like receptors. Adv Immunol，2006，91：251-272

撰稿人：高　福　孙业平

中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室

审稿人：高光侠　李　蓬

如何利用宿主限制因子防治病毒感染

How to Make Use of Host Restriction Factors to Prevent and Cure Virus Infection

在与病毒长期共存的过程中，宿主进化出了一些抗病毒基因，称为宿主限制因子（restriction factor），它们的表达能够阻断病毒在细胞内的复制。宿主限制性因子的发现最初来源于逆转录病毒与宿主相互作用的研究，目前已经发现的限制因子也主要作用于逆转录病毒。

逆转录病毒是一种 RNA 病毒，它的复制过程可以简要地分为下面几个步骤：①病毒颗粒通过细胞表面的受体结合到细胞表面并进入细胞；②病毒基因组 RNA 存在于一个主要由病毒蛋白组成的逆转录复合物中，经过逆转录过程将病毒基因组单链 RNA 先转成单链 DNA，再转成双链 DNA；③双链病毒 DNA 存在于主要由病毒蛋白组成的整合前复合物中，经主动运输的方式进入细胞核；④病毒 DNA 利用自身携带的整合酶整合到宿主细胞染色体上；⑤利用病毒自身启动子转录出病毒 RNA；⑥病毒 RNA 经过剪切后运输出核；⑦以病毒 RNA 为模板翻译产生病毒蛋白；⑧病毒 RNA 和蛋白经过包装后以出芽的方式产生新的病毒颗粒；⑨新产生的病毒颗粒是不成熟的病毒，不具有感染性，病毒蛋白经自身蛋白酶剪切后，成为成熟病毒。

目前已经鉴定的宿主限制因子包括 Fv4、APOBEC3G、Fv1、Trim5α、TRIM28、ZAP、Tetherin。它们作用于逆转录病毒生活周期的不同步骤来抑制病毒的复制[1]，有着明显的病毒特异性。Fv4 阻断小鼠白血病病毒（MLV）与受体的结合[2]；APOBEC3G 攻击病毒逆转录过程中形成的单链 DNA，导致病毒基因组的突变从而抑制病毒的进一步感染和复制[3]；Fv1 阻断 MLV 的入核[2]；TRIM5α 通过与逆转录病毒的 CA 蛋白相互作用阻断病毒 DNA 的合成[4]；TRIM28 抑制 MLV 病毒的转录[5]，ZAP 通过特异性降解病毒 mRNA 来抑制病毒基因的表达[6]，而 Tetherin 则抑制病毒的释放[7]。

除了抑制逆转录病毒复制，上述某些宿主限制因子也能够抑制其他病毒的复制，其抗病毒谱是主要由其作用机理所决定的。例如，APOBEC3G 以单链 DNA 为底物，因此也能够限制生命周期中有逆转录过程的 HBV[8]；ZAP 特异性结合病毒 RNA 并将其降解[6]，因此所限制的病毒范围也比较广，还能够抑制辛德比斯病毒和埃博拉病毒等。目前发现了更多的特异性针对其他病毒的宿主限制因子，还有待更多的研究工作。

某些宿主限制因子具有很强的种属特异性。例如，来自旧大陆猴的 Trim5α 能

够抑制 HIV-1 的感染，而来自新大陆猴，包括人类的 Trim5α 则限制 HIV-1 的能力非常有限。这种 Trim5α 的种属特异性很大程度上决定了旧大陆猴不能被 HIV 感染，而人类能够被 HIV-1 感染。

在与宿主长期共存的过程中，病毒进化出一些拮抗宿主限制因子的机制。例如，HIV-1 的 Vif 蛋白能够抑制 APOBEC3G 的功能[9]；Vpu 能够抑制 Tetherin 的功能[7]。

根据宿主限制因子的特点，是否能够利用宿主限制因子防治病毒感染？这方面的研究目前基本还在探索阶段，可以从以下几方面考虑：①由于宿主限制因子的病毒特异性，发现更多的针对不同病毒的宿主限制因子是进一步研究的基础；②基于宿主限制因子的种属特异性，能否利用小分子药物改变这种特异性？或者利用基因治疗方法引入有抗病毒活性的限制因子；③某些病毒编码的蛋白能够拮抗限制因子的抗病毒功能。能否设计小分子药物抑制这种拮抗作用从而使宿主限制因子发挥正常的抗病毒功能？针对 HIV 病毒 vif 蛋白对 APOBEC3G 的拮抗作用所设计的小分子药物目前已经有了一些进展。

参 考 文 献

[1] Goff SP. Retrovirus restriction factors. Mol Cell，2004，16（6）：849-859
[2] Pryciak PM，HE Varmus. Fv-1 restriction and its effects on murine leukemia virus integration *in vivo* and *in vitro*. J Virol，1992，66（10）：5959-5966
[3] Harris RS，et al. DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection. Cell，2003，113（6）：803-809
[4] Stremlau M，et al. The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. Nature，2004，427（6977）：848-853
[5] Wolf D，SP Goff. TRIM28 mediates primer binding site-targeted silencing of murine leukemia virus in embryonic cells. Cell，2007，131（1）：46-57
[6] Gao G，X Guo，SP Goff. Inhibition of retroviral RNA production by ZAP，a CCCH-type zinc finger protein. Science，2002，297（5587）：1703-1706
[7] Neil SJ，T Zang，PD Bieniasz. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. Nature，2008，451（7177）：425-430
[8] Seppen J. Unedited inhibition of HBV replication by APOBEC3G. J Hepatol，2004，41（6）：1068-1069
[9] Conticello SG，RS Harris，MS Neuberger. The Vif protein of HIV triggers degradation of the human antiretroviral DNA deaminase APOBEC3G. Curr Biol，2003，13（22）：2009-2013

撰稿人：高光侠
中国科学院生物物理研究所
审稿人：高　福　范　明

肥胖是如何引起糖尿病等其他代谢性疾病的？

How does Obesity Lead to the Development of
Other Metabolic Diseases such as Diabetes?

肥胖是由于能量摄取过多而消耗过少造成过多能量以脂肪的形式储存于脂肪组织中。肥胖一般以体重指数［body mass index（BMI）＝体重（kg）/身高（m）的平方］作为标准。国际卫生组织规定的超重标准是大于（或等于）25。肥胖的标准是大于（或等于）30。对于亚洲人而言，因为骨架较西方人小，因此超重和肥胖的标准也相应降低。很多肥胖者都伴有别的代谢性疾病如糖尿病、高血压、心血管疾病等。尽管肥胖引起的不同种类的代谢性疾病的机制因疾病的类型而异，但它们有一个共同点，即肥胖个体导致体内的代谢紊乱，尤其是脂类和糖类代谢紊乱，导致了一系列代谢性疾病的产生[1,2]。

以糖尿病为例，糖尿病分为Ⅰ和Ⅱ型，Ⅰ型糖尿病主要以胰岛细胞损伤和胰岛素分泌不足为主要特征，而Ⅱ型糖尿病则表现为胰岛素敏感性下降。肥胖的病人往往比正常人容易引起糖尿病。肥胖引起的糖尿病主要是Ⅱ型，最初并不是表现为胰岛素分泌不足，而是胰岛素敏感性下降。胰岛素敏感性受阻主要表现在生物体的三种组织中：一是骨骼肌中受胰岛素刺激的葡萄糖吸收下降；二是肝脏中受胰岛素调节的葡萄糖生产能力下降；三是脂肪组织中受胰岛素调节的脂水解能力下降。以上均导致胰岛素及其受体不能正确将血液中的葡萄糖转运出去，造成病变过程。不可忽视的是，胰岛素的低敏感性会导致机体分泌更多的胰岛素，以弥补低敏感性，而过多地分泌胰岛素会造成胰岛细胞的损伤。

那么，肥胖如何引起Ⅱ型糖尿病的发生呢？目前公认的有三个假说。其中一个假说是肥胖病人的血液中脂肪含量尤其是游离脂肪酸含量较高，血液中的游离脂肪酸可以对别的组织尤其是胰岛组织造成伤害，从而产生胰岛素抵抗和糖尿病，这就是著名的脂毒性假说[3]。但体外的很多分子和细胞生物学实验表明，要对胰岛细胞产生脂毒性需要高浓度的游离脂肪酸。这么高浓度的脂肪酸在很多肥胖病人中并没有检测到。同时，肥胖引起的主要是Ⅱ型糖尿病，早期不涉及胰岛损伤，而是胰岛素敏感性下降。该假说没有很好地解释胰岛素敏感性下降的问题，因此脂毒性假说有很大的争议。

其次是炎症反应与巨噬细胞招募假说。大量的研究证据表明，与胰岛素敏感性密切相关的脂肪、肝脏以及骨骼肌三大组织，在肥胖个体中均会表现炎症反应，主要伴随一些炎症因子的分泌，如肿瘤坏死因子 TNF α、白介素 IL-6 和 C 反应蛋白

CRP[4,5]。最近的研究表明，肥胖导致的炎症反应是由于 M1 型巨噬细胞的侵染所致[6]。例如肥胖个体的脂肪组织中，巨噬细胞超过了整个脂肪组织的 40%，而瘦型个体中该比例只有近 10%。由 M1 型巨噬细胞分泌的炎症因子最终将导致胰岛素抵抗。

第三则是脂肪细胞因子假说。脂肪细胞不仅是一个能量储存器，而且它能合成脂肪细胞特异性的细胞因子，如瘦素、脂联素、抵抗素等，同时也能分泌炎症因子如肿瘤坏死因子α和白介素 6 等[7]。这些细胞因子在脂肪组织和其他组织之间的信息传递以及脂肪细胞自身能量储存与调控方面起重要作用。正常条件下的脂肪细胞分泌较高水平的瘦素和脂联素，前者通过感知能量储备调控生物体的食欲，后者则能改善胰岛素的敏感性。但是肥胖个体中以上两种细胞因子减少，而与胰岛素抵抗相关的细胞因子如抵抗素、肿瘤坏死因子α和白介素 6 等增加。脂肪细胞分泌细胞因子平衡的破坏导致胰岛素抵抗的发生（图 1）。

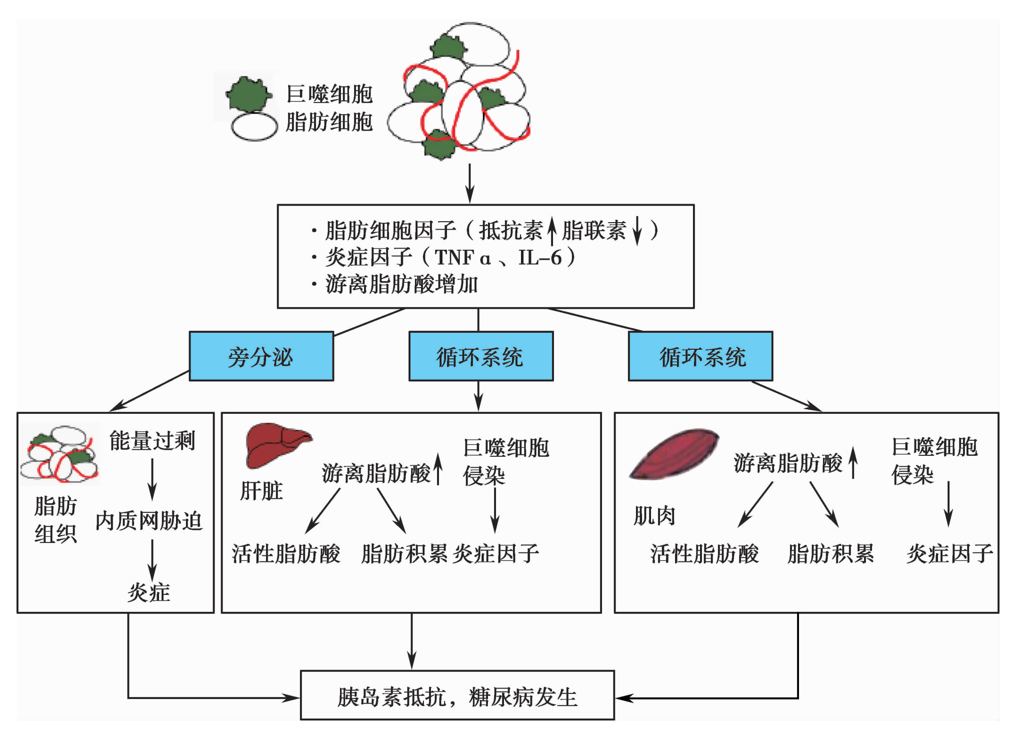


图 1　肥胖导致糖尿病发生的途径

肥胖主要通过游离脂肪酸、炎症因子以及脂肪细胞因子等影响脂肪、肝脏和肌肉等组织中的胰岛素抵抗，导致糖尿病的发生

最近研究人员提出了内质网胁迫假说。内质网负责细胞内蛋白质合成与加工，

以及脂类合成。内质网胁迫假说认为，肥胖个体往往需要增加分泌型器官中细胞的蛋白质合成、过多脂类的积累、不正常的细胞内能量流动，以及蛋白质的折叠等过程，内质网像一个超负荷运转的工厂，导致内质网胁迫产生。肥胖个体外周组织中内质网长期的胁迫诱导了炎症的发生，最终抑制了胰岛素受体信号转导，产生胰岛素抵抗。过量取食导致的胰岛素敏感性迅速下降是否由于内质网胁迫造成还有待于进一步的研究。该假说是基于之前的炎症因子学说的。

肥胖引起的包括糖尿病在内的代谢综合征绝不是一个单一的生理过程，而是由复杂的机制引起的，并且涉及生物体多个组织的代谢（图 1）。总之，由肥胖引起的胰岛素抵抗是长期的能量过剩引起的，其作用机制非常复杂，其中包括脂肪酸流通的增加、营养物质的过量、脂肪组织的微缺氧、脂肪细胞来源的细胞因子以及长期的组织炎症等。虽然分子和细胞生物学研究显示可能有一些别的分子参与了肥胖病人糖尿病的发生过程，但他们的生理学意义还没有被确认，因此肥胖是如何导致糖尿病的产生和发展的依然是生物学的难题。

参 考 文 献

[1] Reaven GM. Syndrome X. Blood Press Suppl，1992，4：13-16

[2] Ozcan U，Cao Q，Yilmaz E，et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity，insulin action，and type 2 diabetes. Science，2004，306：457-461

[3] Schenk S，Saberi M，Olefsky JM. Insulin sensitivity：modulation by nutrients and inflammation. J Clin Invest ，2008，118：2992-3002

[4] Weisberg SP，McCann D，Desai M，et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest，2003，112：1796-1808

[5] Xu H，Barnes GT，Yang Q，et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Invest，2003，112：1821-1830

[6] Uysal KT，Wiesbrock SM，Marino MW，et al. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF-α function. Nature，1997，389：610-614

[7] Ahima RS. Connecting obesity，aging and diabetes. Nature Medicine，2009，15：996-997

撰稿人：[1]李　蓬　[1,2]徐　俐

1 清华大学

2 北京交通大学

审稿人：高　福　范　明

人体为什么要储存脂肪？人为什么会发胖？

Why do We Need to Store Fat in Adipose Tissue?
Why do People Become Obese?

脂肪是指一类脂溶性的物质，是动物和人体的重要结构成分。脂肪包括中性脂肪如甘油三酰脂，极性脂肪如胆固醇、磷脂等。脂肪的主要功能包括能量储存、细胞膜的组成成分，以及信号转导分子。如胆固醇和磷脂是细胞膜的重要成分，并与很多信号转导途径有关。中性脂肪主要储存于脂肪细胞内的脂滴中，是最重要的能量储存物质。因为其疏水性，以及结构的复杂性，中性脂肪也是能量储存的最有效的成分。以每克有机物在体内完全氧化产生的能量值计算，碳水化合物和蛋白质的能量系数为 4.0kcal/g（1cal＝4.1868J，后同），而脂肪则为 9.0kcal/g。很显然，脂肪的能量储存效率高出糖和蛋白质 1 倍。体内储存的脂肪可以在能量缺乏如饥饿时分解成脂肪酸并释放到血液中供各个组织利用，从而维持动物或人体的正常生理活动。在人类进化的漫长过程中，食物的供给一直是缺乏的，大部分时间处于饥饿状态，因此人体内发展出多种多样的生理功能以促进脂肪的积累，以应付艰难的生活条件，因此脂肪的储存是人类进化的结果，是重要的保护生命延续的手段[1]。只有在近几十年，在食物不断丰富、体力活动逐步减少的条件下，脂肪的过量积累才造成肥胖和糖尿病等多种代谢性疾病。

肥胖症已经成为世界范围内的流行性疾病。它不仅影响了大多数工业化国家人群，甚至影响了发展中国家中比例越来越大的人群，因此肥胖在最近几年中受到了研究者越来越多的重视。据 2004 年的统计结果，我国成人超重率为 22.8％，肥胖率为 7.1％，大城市成人超重率与肥胖率分别高达 30.0％和 12.3％，儿童肥胖率已达 8.1％。根据世界卫生组织公布的资料显示，全球范围内，体重超标的人员已经超过 10 亿，其中至少 3 亿人口处于肥胖状态[2]。还有一个不容忽视的现象是，无论是发展中国家还是发达国家，儿童肥胖成为越来越严重的问题，因此肥胖已经成为一种世界性流行性疾病[3]。

肥胖症产生的主要原因是机体能量代谢平衡被打破，人体内过多积累脂肪而造成的一种慢性代谢性疾病[4]。由于人们对富含高能量食物的过多摄取与机体运动的减少，导致过多的能量储存在白色脂肪组织中。通过细胞学的手段研究发现，肥胖的发生是由于脂肪细胞数量的增加以及脂肪细胞规格的变大两个方面引起的。脂肪数量的增加是由于更多的纤维原细胞被诱导分化为脂肪细胞，而脂肪细胞变大则是由于脂肪细胞中的脂滴变大所致。脂滴作为一个细胞器，是白色脂肪细胞的主要组

成部分，在脂肪细胞中所占比例超过了95%。

需要特别强调的是，脂肪不仅仅储存在脂肪细胞中，几乎所有的细胞类型均能储存脂肪。当肥胖发生时，不仅白色脂肪组织承担起储存能量的任务，而且多余的能量也会流向其他组织和细胞中。例如肝脏细胞中过多地储存脂肪，会造成脂肪肝的发生；巨噬细胞储存脂肪，直接导致泡沫细胞的形成，最终发展为心血管疾病。

根据脂肪组织在人体内分布的不同，肥胖可以分为苹果型肥胖，又称腹部型肥胖。这种体型的人脂肪多积累在腹部，包括腹腔皮下、肠系膜、内脏器官等。该体型的肥胖个体中男性占多数。另一种为梨型肥胖，又称下半身肥胖，脂肪主要积累在臀部及腿部。该体型的肥胖个体中女性比例更高。苹果型肥胖比梨型肥胖更容易诱发糖尿病。如果女性腹部与臀部周长比超过0.8，男性超过1.0，则认为是苹果型体型[5]。

针对肥胖产生的原因，医治肥胖症的策略只要集中在以下几个方面：减少食物摄取，包括主观能动地限制饮食，或者通过药物抑制食欲；抑制肠道对营养物质的吸收功能；增加产热；增加脂解或者抑制脂肪积累等[6]。但是目前的减肥药物副作用大，并且体重容易反弹。

肥胖产生的原因主要是因为摄取的能量超过消耗的能量从而造成过多的能量以脂肪的形式在脂肪组织中大量积累。调控脂肪积累的分子机制主要包括调控食物的摄取、各组织间能量代谢的平衡以及脂肪细胞的发育和分化等几个方面。但各组织之间如何协调能量代谢的平衡，脂肪细胞中脂肪的积累如何调控以及探索切实有效的肥胖症医治靶点和药物，仍然是代谢性疾病研究的重点和难点。

参 考 文 献

[1] Bellisari A. Evolutionary origins of obesity. Obes Rev，2008，9：165-180

[2] Haslam DW，James WP. Obesity. Lancet，2005，366：1197-1209

[3] Kopelman PG. Obesity as a medical problem. Nature，2000，404：635-643

[4] Barsh GS，Farooqi IS，O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. Nature，2000，404：644-651

[5] Huxley R，Mendis S，Zheleznyakov E，et al. Body mass index，waist circumference and waist：hip ratio as predictors of cardiovascular risk. European Journal of Clinical Nutrition，2009，DOI：10.1038/ejcn.2009.68

[6] Bray GA，Tartaglia LA. Medicinal strategies in the treatment of obesity. Nature，2000，404：672-677

撰稿人：[1]李　蓬　[1,2]徐　俐

1 清华大学

2 北京交通大学

审稿人：高　福　范　明

胰岛素如何促进葡萄糖的转运？

How does Insulin Promote Glucose Up-take?

胰腺中分布着许许多多的细胞群，称为胰岛。胰岛素就是由胰岛中的β细胞分泌产生的一种特殊的蛋白质类激素。位于人类第 11 对染色体断臂上的胰岛素基因经转录和翻译，得到 105 个氨基酸残基构成的前胰岛素原（preproinsulin）是一个单链的多肽分子。前胰岛素原在转运到内质网时信号肽被剪切，形成了胰岛素原（proinsulin）。在空间上通过折叠的胰岛素原氨基端和羧基端之间形成两个二硫键，羧基端内部也形成一个二硫键，中间部分则为 C 肽。在内质网内经过肽酶剪切，产生了诱惑性的成熟胰岛素（insulin）和游离的 C 肽（图 1），因此胰岛素由 21 个氨基酸残基的 A 链和 30 个氨基酸残基的 B 链组成。胰岛素与 C 肽一同在高尔基体中包装，分泌到β细胞外，进入血液中。虽然 C 肽没有任何生物活性，但它与胰岛素等分子分泌到血液中，因此其在血液中的水平可以作为检测胰岛素的水平[1]。不直接检测胰岛素水平，是为了避免胰岛素抗体的干扰。

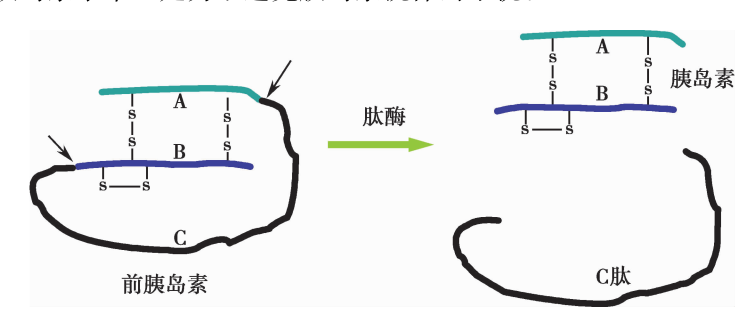


图 1　胰岛素成熟过程中蛋白质加工示意图

碳水化合物，尤其是葡萄糖，是大多数生物体的重要能量来源。一些组织，例如大脑需要恒定的葡萄糖，低浓度的血糖会导致惊厥、失去意识，甚至死亡。但是血糖的持续高升，如糖尿病患者，会导致失明、肾功能衰退、心脏和周边血管疾病以及神经性疾病，因此血糖浓度适宜的生理范围较小。血糖浓度的精细调控主要通过周边组织的葡萄糖吸收和肝脏的葡萄糖生产平衡来调节。空腹期间，肝脏提供葡萄糖以供大脑所需，该过程与胰岛素无关。进食后，血糖浓度迅速升高，刺激分泌胰岛素，几分钟内即能增加葡萄糖转运和代谢，能量存储于肌肉和脂肪细胞中。同时，胰岛素亦能抑制胰高血糖素分泌和降低游离脂肪酸浓度，从而降低肝脏中葡萄糖的生产。可见，胰岛素在葡萄糖转运过程中的作用是至关重要的[2]。

由于细胞膜是一种磷脂双分子层结构，水溶性的葡萄糖无法自行穿越膜结构。因此葡萄糖转运必须借助其转运系统。葡萄糖的细胞转运有两个不同的转运蛋白家族，一种是小肠与肾脏特有的钠连接的葡萄糖转运系统，以钠共转为能量来源，逆葡萄糖浓度梯度进行转运。另一种是葡萄糖从高浓度到低浓度的扩散，不需要能量。该系统的葡萄糖转运蛋白（GLUT）是一个跨膜蛋白家族，包括 GLUT-1，2，3，4，5，由不同的基因编码。这些 GLUT 的不同亚型具有底物特异性、不同的动力学特征和组织特异性，意味其功能的差异性。胰岛素介导的血糖中葡萄糖的转运主要通过 GLUT-4 来实施。

GLUT-4 是一种对胰岛素敏感的葡萄糖转运蛋白，主要位于肌肉和脂肪细胞中。在正常的肌肉和脂肪细胞中，GLUT-4 是一种在质膜和胞内循环使用的蛋白质[3]。它与其他 GLUT 亚型最大的不同点在于：在无胰岛素和其他刺激（如运动）的条件下，90％的 GLUT-4 储存于胞内囊泡中；一旦有胰岛素或其他刺激，GLUT-4 迅速转位到质膜，将葡萄糖转运到细胞内。被转运进胞内的葡萄糖被已糖激酶迅速磷酸化，形成 6-磷酸葡萄糖，进入糖解过程，6-磷酸葡萄糖不能扩散到细胞外。这样保持胞内的葡萄糖浓度处于低水平和胞内外的葡萄糖浓度差异，保证胞外的葡萄糖持续通过其转运蛋白扩散进入胞内[4-6]。

那么细胞是如何感知葡萄糖和胰岛素信号刺激的呢？第一，胰岛细胞必须感知到高葡萄糖水平。葡萄糖通过其转运蛋白扩散到胰岛β细胞内部，β细胞内高浓度的葡萄糖会导致膜结构的去极性化，从而诱导钙离子的内流，促进含胰岛素分泌囊泡的胞吐作用，分泌胰岛素到胞外，进入血液循环[7]。这个过程中膜结构去极性化的机制以及钙离子的依赖性还有待进一步的研究和证实。第二，被刺激的胰岛素如何将信号传递给葡萄糖转运蛋白？肌肉和脂肪细胞质膜中存在胰岛素受体，是一种酪氨酸激酶。结合了胰岛素的胰岛素受体（IR）被激活，将胰岛素受体底物（IRS）进行磷酸化激活。活化的 IRS 通过与磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）相互作用，磷酸化一系列的下游蛋白质，最终刺激 GLUT-4 从囊泡中转位到质膜上，葡萄糖转运蛋白在细胞膜上形成利于葡萄糖运输的通道，实现对葡萄糖从血液到肌肉和脂肪细胞内的转运（图 2）。第三，胰岛素在完成葡萄糖的转运之后，对葡萄糖的去向起怎样的作用？研究表明，胰岛素及其受体不仅帮助把葡萄糖转运到胞内，而且协助完成胞内葡萄糖的代谢过程。被激活的 PI3K 的信号通路不仅协助 GLUT-4 的转位，而且参与糖原、脂类及蛋白质合成，以及基因表达调控等。另外，IRS 还通过与其他蛋白质作用，激活有丝分裂原激活蛋白激酶（MAPK），参与基因的表达与调控。

总之，胰岛素及其受体不仅诱导 GLUT-4 从胞内囊泡中转运到质膜上，参与血糖中葡萄糖的转运过程，而且还调控了转运到胞内的葡萄糖的代谢过程[8]。葡萄糖转运蛋白从细胞内转移到细胞膜的过程依然存在很多争议，它的结构发生了什么

变化，胰岛素信号转导如何调控葡萄糖转运蛋白的修饰等问题，至今还是未知的，因此对于胰岛素促进葡萄糖转运过程还需要更加深入和细致的研究。

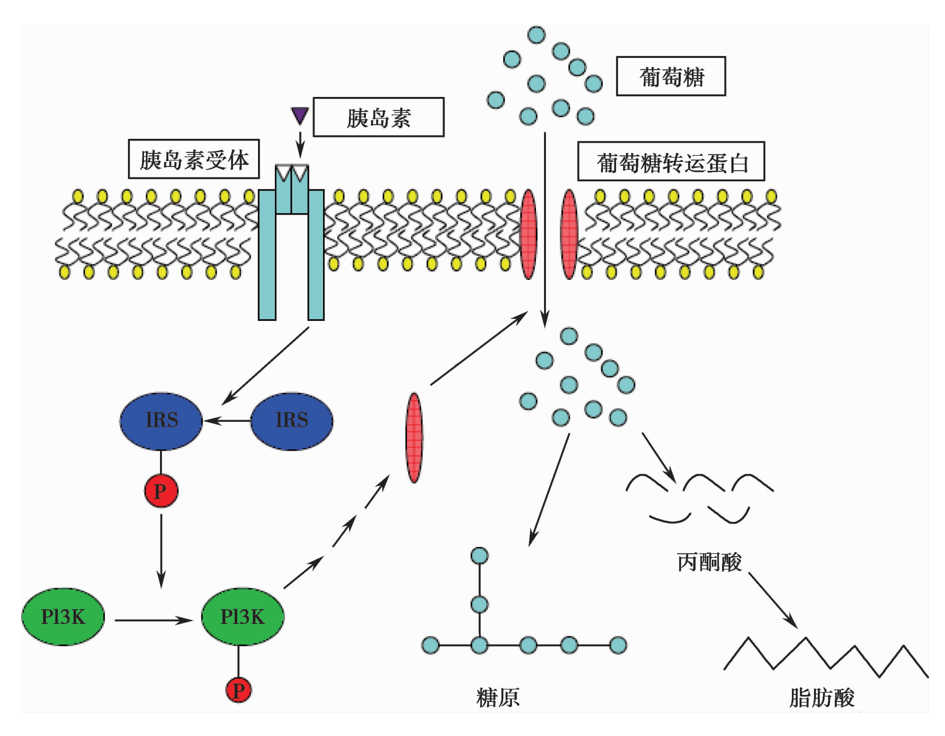


图 2　胰岛素信号刺激葡萄糖转运途径

参 考 文 献

[1] Hills CE，Brunskill NJ，Squires PE. C-peptide as a therapatic tool in diabetic nephropathy. Am J Nephrol，2010，31：389-397

[2] Shepherd PR，Kahn BB. Glucose transporters and insulin action-implications for insulin resistance and diabetes mellitus. N Engl J Med，1999，341：248-257

[3] Watson RT，Pessin JE. GLUT4 translocation：the last 200 nanometers. Cell Signal，2007，19：2209-2217

[4] Charron MJ，EB Katz，AL Olson. GLUT4 gene regulation and manipulation. J Biol Chem，1999，274：3253-3256

[5] Pessin JE，Thurmond DC，Elmendorf JS，et al. Molecular basis of insulin-stimulated GLUT4 vesicle trafficking. Location! Location! Location! J Biol Chem，1999，274：2593-2596

[6] Kahn BB. Type 2 diabetes：When insulin secretion fails to compensate for insulin resistance. Cell，1998，92：593-596

[7] Lanner JT, Bruton JD, Katz A, et al. Ca^{2+} and insulin-mediated glucose uptake. Curr Opin Pharmacol，2008，8：339-345
[8] Huang S, Czech MP. The GLUT4 glucose transporter. Cell Metab，2007，5：237-252

撰稿人：[1]李　蓬　[1,2]徐　俐
1 清华大学
2 北京交通大学
审稿人：高　福　范　明

人体有褐色脂肪组织吗？

Do We Have Brown Adipose Tissue?

脂肪组织是一种特殊的结缔组织，由大量的脂肪细胞聚集而成，聚集成团的脂肪细胞由薄层疏松结缔组织分隔成小叶，其中含有血管、神经、巨噬细胞、肥大细胞和白细胞等。根据细胞结构和功能不同，脂肪组织分为白色脂肪组织和褐色脂肪组织。白色脂肪组织主要存在于皮下，肠系膜和内脏的组织之间，因颜色是白色而得名。白色脂肪细胞含有一个大的脂滴，该脂滴几乎与细胞等大，扁圆形的细胞核位于周边，其含有少量线粒体，是代谢活动不活跃的细胞。其主要功能是储存脂肪以及分泌脂肪细胞因子，以及脂解脂肪以满足机体能量缺乏时正常的代谢活动。褐色脂肪组织因其含有大量线粒体而颜色呈褐色（图 1）。褐色脂肪细胞内含有多个小脂滴和非常丰富的线粒体，因而代谢活跃。褐色脂肪细胞含有一种特异性的蛋白质，称为解偶联蛋白（UCP1），它可将线粒体代谢的能量转化成热量而达到维持动物或人体体温的作用，尤其是对在寒冷等条件下产生的适应性非颤抖性产热起着重要的作用[1,2]。

长期以来，人们认为褐色脂肪组织只存在于动物个体和人类新生儿中，成年人中无褐色脂肪组织。成年中是否有褐色脂肪组织一直是一个有争议的问题。新生儿中能检测到 UCP1 蛋白表达及蛋白活性，但是随着年龄的增加，褐色脂肪组织的功能逐渐减少并消失，因此长期以来人们认为成年人中没有褐色脂肪组织[3-5]。但是这个观点最近遭到了强烈的质疑。人们首先在白色脂肪组织中检测到了 UCP1 的信使 RNA 表达，并且其表达水平受到去甲肾上腺素上调。成人试验中通过注射去甲肾上腺素刺激了人体的产热反应。这些数据在一定程度上证实了褐色脂肪组织在成人中存在的可能性，但是这些不是直接的数据，还不能足以证实成人中褐色脂肪组织的存在[6,7]。近来通过一些新技术，在一些成年人中发现了特异的褐色脂肪组织，这包括即脱氧葡萄糖正电子放射断层显像技术［^{18}F-fluorodeoxyglucose（^{18}F-FDG）positron-emission tomographic and computed tomographic ，PET-CT］[8]。脱氧葡萄糖注射液是一种正电子放射性体内用药，与正电子放射断层显像技术（PET）结合用于研究和临床诊断。该方法显像清晰、安全、有效，符合临床应用要求。葡萄糖是能量代谢来源，可以用于活跃组织的检测。该技术检测同位素^{18}F 标记的氟代脱氧葡萄糖代谢速率，作为褐色脂肪组织的活性指标，以及结合 CT 技术扫描褐色脂肪组织的存在与大小。该技术首先证实了在寒冬刺激条件下，褐色脂肪组织在人体内的出现[9]。通过对 1972 位不同病因的患者进行 PET-CT 检

测，发现 7.5%的女性和 3.1%的男性成年个体中从颈前到胸部存在褐色脂肪组织[10]。检测 24 名健康成年男子在 16℃低温下寒冷刺激 2h 后的褐色脂肪活性，23 名个体中均能检测到[11]。脱氧葡萄糖正电子放射断层显像技术不仅证实了在部分成年人中褐色脂肪组织的存在，而且表明了其活性与年龄和肥胖呈负相关。

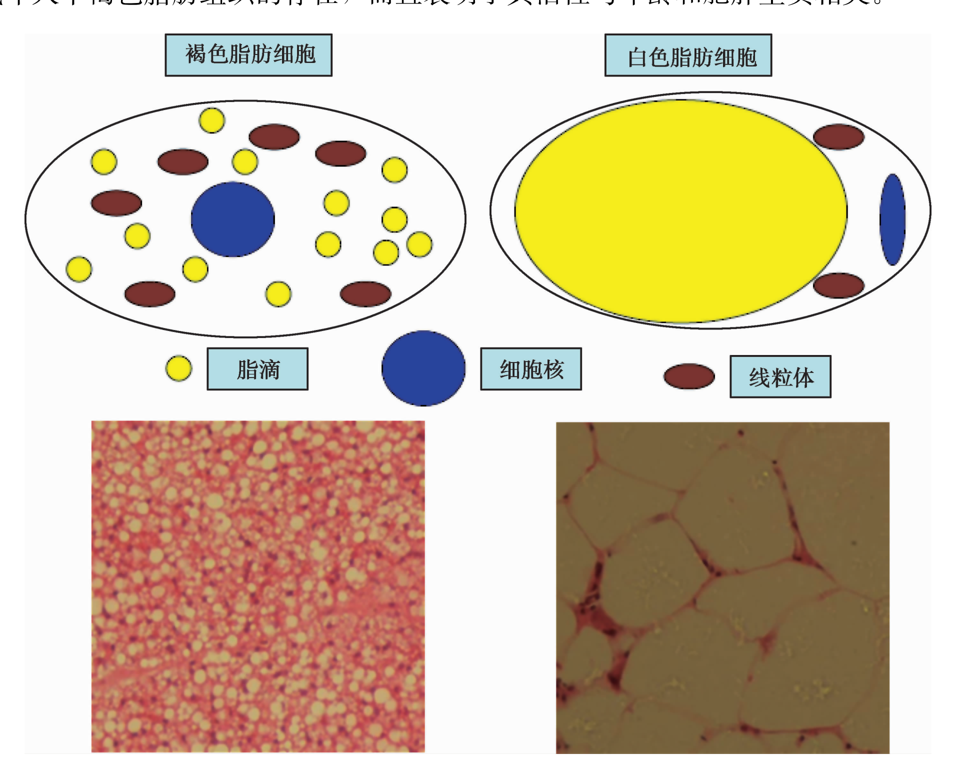


图 1　褐色脂肪组织和白色脂肪组织的主要形态学差异

上图为两种脂肪组织的直观示意图。下图则是两种小鼠脂肪组织经过苏木精和伊红染色后，显微摄影的图片，200 倍放大。白色部分为脂滴

由于褐色脂肪组织是一个产热和消耗能量的器官，那么是否可以通过增加褐色脂肪组织的活性来达到安全有效地抵抗肥胖的效果是一个合情合理的问题。一些动物实验也证实了这种想法的正确性，流行病学研究也发现褐色脂肪的存在与某些人群的抗肥胖有关。但是其应用在人类中的研究还依然很漫长。常用的通过肾上腺素刺激，增加褐色脂肪细胞数量的方法往往会对心脏功能造成不可避免的副作用。此外，如何保持褐色脂肪组织长期稳定的活性也是一个棘手的问题。

总之，现在的研究已经证实了褐色脂肪组织在健康人体中存在的普遍性，但是它随着年龄的增加以及肥胖的产生而减少甚至消失。我们依然面临很多的问题需要解决，包括人类的褐色脂肪组织的分化如何被调控，其他组织如白色脂肪组织是否

可以转化为褐色脂肪组织，以及褐色脂肪组织在人体中的功能等。这些问题还需要更深入的研究。

参 考 文 献

［1］ Cannon B，Nedergaard J. Brown adipose tissue：function and physiological significance. Physiol Rev，2004，84：277-359

［2］ Jung RT，Leslie P，Nicholls DG，et al. Energy expenditure in normal and diabetic man：the role of brown adipose tissue. Health Bull，1988，46：55-62

［3］ Merklin RJ. Growth and distribution of human fetal brown fat. Anat Rec，1974，178：637-646

［4］ Lean MEJ. Brown adipose tissue in humans. Proc Nutr Soc，1989，48：243-256

［5］ Cunningham SA，Leslie P，Hopwood D，et al. The characterization and energetic potential of brown adipose tissue in man. Clin Sci，1985，69：343-348

［6］ Garruti G，Ricquier D. Analysis of uncoupling protein and its mRNA in adipose tissue deposits of adult humans. Int J Obes，1992，16：383-390

［7］ Champigny O，Ricquier D. Evidence from *in vitro* differentiating cells that adrenoceptor agonists can increase uncoupling protein mRNA level in adipocytes of adult humans：an RT-PCR study. J Lipid Res，1996，37：1907-1914

［8］ Tatsumi M，Engles JM，Ishimori T，et al. Intense ^{18}F-FDG uptake in brown fat can be reduced pharmacologically. J Nucl Med，2004，45：1189-1193

［9］ Virtanen KA，Lidell ME，Orava J，et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. N Engl J Med，2009，360：1518-1525

［10］ Cypess AM，Lehman S，Williams G，et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. N Engl J Med，2009，360：1509-1517

［11］ van Marken Lichtenbelt WD，Vanhommerig JW，Smulders NM，et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. N Engl J Med，2009，360：1500-1508

撰稿人：[1]李　蓬　[1,2]徐　俐

1 清华大学

2 北京交通大学

审稿人：高　福　范　明

如何通过免疫干预防止“休眠”的肿瘤细胞被激活

How to Prevent Dormant Tumor Cells from Activation by Immune Approaches

绝大多数肿瘤患者死于肿瘤复发和转移，肿瘤细胞转移的过程是在脱离原发肿瘤组织后，通过血液或淋巴循环系统转移到新的组织或器官（如骨髓、淋巴结、肝、肺等），肿瘤细胞在转移部位生长成为临床上可见的转移灶之前会经历休眠阶段。肿瘤休眠（tumor dormancy）是指肿瘤细胞在人体内长期存在而没有明显生长的一种状态。肿瘤休眠可以分为肿瘤块休眠（tumor mass dormancy）和肿瘤细胞休眠（tumor cell dormancy）或细胞休眠（cellular dormancy）。前者是指肿瘤细胞仍然分裂，但由于血供受限或免疫系统被激活的原因，瘤体大小在长时间内无明显改变；后者是指肿瘤细胞进入静止状态，既不增殖也不凋亡，但仍具有增殖的潜能。上述肿瘤休眠现象在临床上非常普遍，例如尸检中发现 40～50 岁健康妇女中有 1/3 以上的乳腺存在原位休眠肿瘤[1]，但这一年龄阶段妇女临床乳腺癌的发病率仅为 1%，乳腺癌患者在原发肿瘤切除治疗后的 5～20 年间仍有可能复发（每年复发率约为 1%），我们在原发乳腺肿瘤手术切除后 20 年间无肿瘤复发临床症状的患者血液中仍能检测到休眠肿瘤细胞[2]。此外，淋巴瘤[3]、前列腺癌[4]等多种肿瘤病人通过药物或手术治疗后长时间没有疾病症状，但是在患者体内能检测到相应的休眠肿瘤细胞。因此了解肿瘤休眠的发生机制及对休眠肿瘤细胞的治疗措施将对肿瘤的临床预防和治疗提供重要的理论基础。

许多研究均发现体液免疫与细胞免疫是控制肿瘤细胞休眠状态的关键因素。免疫系统通过表达可溶性因子如单克隆抗体及细胞因子等机制抑制肿瘤生长，促进肿瘤细胞发生细胞周期停滞（cell cycle arrest，CCA），这种抑制效应可促使肿瘤细胞进入休眠状态。在 BCL1 小鼠淋巴瘤模型中，BCL1 来源的免疫球蛋白（Ig）免疫产生的抗独特型免疫反应可以诱导肿瘤休眠[5,6]。Ig 免疫以后再接种 BCL1 肿瘤细胞，大约 70%的小鼠脾内都有休眠肿瘤细胞。在宿主体内产生的抗体通过与肿瘤细胞表面的免疫球蛋白高度交联发挥激动剂的作用，激活 p21CIPI/WAFICDK 抑制因子的表达，从而抑制 Cyclin E/CDK2 激酶复合体活性，阻止细胞从 G_1 期进入细胞周期。$CD8^+$ T 细胞和 IFN-γ 与体液免疫反应协同作用来维持肿瘤休眠的状态，与单独应用抗体诱导的肿瘤休眠相比，$CD8^+$ T 细胞可以增大休眠的范围并延长其维持时间[7]。与之相对应的是另有研究发现，休眠的 DA1-3b 小鼠急性骨髓白

血病细胞表达 B7H1（也称为 CD274 抗原和程序性细胞死亡配体 1）[8]，降低细胞毒性 $CD8^+$ T 细胞介导的免疫反应，从而使休眠的白血病肿瘤细胞不能被免疫系统所识别。

传统的抗肿瘤治疗如化疗和放疗等能比较有效地杀死大部分肿瘤细胞，然而休眠的肿瘤细胞和肿瘤干细胞能明显抵抗这些治疗而不能被清除。因为休眠肿瘤细胞不分裂，所以休眠的肿瘤细胞对常规治疗方法不敏感，很难被清除[9,10]。因此如何通过免疫干预手段使这些细胞保持休眠状态而不被激活并进入迅速分裂期，是防止肿瘤复发的有效手段之一。希望在将来通过有效的免疫治疗和干预，肿瘤像糖尿病、高血压一样，是一种可控的慢性病。

参 考 文 献

[1] Folkman J，Kalluri R. Cancer without disease. Nature，2004，427（6977）：787

[2] Meng S，Tripathy D，Frenkel EP，et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy . Clinical Cancer Research，2004，10（24）：8152-8162

[3] Davis TA，Maloney DG，Czerwinski DK，et al. Anti-idiotype antibodies can induce long-term complete remissions in non-Hodgkin’s lymphoma without eradicating the malignant clone. Blood，1998，92（4）：1184-1190

[4] Pfitzenmaier J，Ellis WJ，Hawley S，et al. The detection and isolation of viable prostate-specific antigen positive epithelial cells by enrichment：a comparison to standard prostate-specific antigen reverse transcriptase polymerase chain reaction and its clinical relevance in prostate cancer. Urologic Oncology，2007，25（3）：214-220

[5] Marches R，Scheuermann R，Uhr J. Cancer dormancy：from mice to man. Cell Cycle，2006，5（16）：1772-1778

[6] Marches R，Hsueh R，Uhr JW. Cancer dormancy and cell signaling：induction of p21（waf1）initiated by membrane IgM engagement increases survival of B lymphoma cells. Proc Natl Acad Sci U S A，1999，96（15）：8711-8715

[7] Farrar JD，Katz KH，Windsor J，et al. Cancer dormancy. VII. A regulatory role for $CD8^+$ T cells and IFN-gamma in establishing and maintaining the tumor-dormant state. J Immunol，1999，162（5）：2842-2849

[8] Saudemont A，Quesnel B. In a model of tumor dormancy，long-term persistent leukemic cells have increased B7-H1 and B7.1 expression and resist CTL mediated lysis. Blood，2004，104（7）：2124-2133

[9] Naumov GN，Townson JL，MacDonald IC，et al. Ineffectiveness of doxorubicin treatment on solitary dormant mammary carcinoma cells or late-developing metastases. Breast Cancer Res Treat，2003，82，199-206

[10] Ranganathan AC，Zhang L，Adam AP，et al. Functional coupling of p38-induced up-regu-

lation of BiP and activation of RNAdependent protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase to drug resistance of dormant carcinoma cells. Cancer Res，2006，66（3）：1702-1711

撰稿人：孟颂东
中国科学院微生物研究所
审稿人：高光侠　李　蓬

免疫细胞进出肿瘤细胞现象的确切生物学意义和机制是什么？

What is the Biological Meaning and Mechanism of the Immunocyte in and out Tumor Cell?

细胞进出细胞（cell-in-cell）现象指一个或几个细胞进入到另一个细胞内的现象，可以发生在同质细胞内，也可以发生在异质细胞间。进入的细胞可以再出来，也可以在进入的细胞内分裂生长。这一现象的表述可以追溯到100年前，但其生物学意义和机制至今还不明了。我国学者王小宁25年前在研究NK细胞与肿瘤细胞相互作用时曾发现[1-4]，NK细胞可以“钻入”癌细胞内，可以从内部杀伤癌细胞，但更多地表现为在肿瘤细胞内的自我降解，提出癌细胞可“反杀伤”免疫细胞的论点。2007年，美国科学家在*Cell*杂志发表论文证实[5]：一些癌细胞可以互相“钻入”同质癌细胞，而且进入的细胞的命运也主要表现为胞内死亡，被认为是一种新的细胞死亡方式，称为Entosis，与王小宁教授20多年前的发现十分相像。提出Entosis概念的作者随后阅读了王小宁20多年前的研究论文，认为与其发现十分相似，并在其随后发表在*Nature Review*杂志的综述论文中对此做了正面引用[6]。王小宁小组通过与中国科技大学姚雪彪教授的通力合作，利用现代细胞与分子生物学技术再次证实其25年前的发现是正确的，即NK细胞可以进入癌细胞，并且命运主要表现为胞内死亡。而且，这种死亡是一种不同于前述Entosis的新的胞内死亡方式，具有不同的死亡机制，为进一步探讨免疫细胞与肿瘤相互作用的机理和新的生物学意义提供了新的视角，也为细胞生物学提供了新的细胞研究模式。该研究成果在*Cell Research*杂志上发表时配发的述评对此作了较高的评价，认为是一个源于中国的原创性工作，并可能开辟肿瘤和免疫学研究的一个新领域。王小宁小组最近的研究又有了更具学术价值的发现[7]，例如发现NK细胞可以高比例进入正常干细胞或肿瘤干细胞内，但具有不同的命运，提示有可能为肿瘤干细胞-免疫细胞相互作用研究提供一个新的起点。然而，到目前为止，免疫细胞进出瘤细胞的确切生物学意义和机制还很不清楚，需要继续加强研究。这项研究不但可以进一步理解肿瘤-免疫系统相互作用的机制，而且可能发现新的作用靶点和作用模式，为新的肿瘤生物治疗策略提供学术基础[8]。

参 考 文 献

[1] 王小宁，肖建国，李文简．用改进的单个细胞细胞毒试验观察自然杀伤细胞的杀伤形态．

第一军医大学学报，1984
[2] 王小宁，肖建国，曹巧丽等 . 自然杀伤细胞介导靶细胞裂解机制的电镜研究 . 中国免疫学杂志 ，1986
[3] Wang XN，Li WJ. Mechanisms of natural killer cell-mediated tumor cell cytolysis at a single cell level. Journal of Medical Colleges of PLA，1987 ，2（2）：107- 117
[4] Xia P，Wang S，Guo Z，et al. Emperipolesis，entosis and beyond：Dance with fate. Cell Res，2008，18：705-707
[5] Overholtzer M，Mailleux AA，Mouneimne G，et al. A nonapoptotic cell death process，entosis，that occurs by cell-in-cell invasion. Cell，2007，131：966-979
[6] Michael O，Joan S B. The cell biology of cell-in-cell structure. Nature Reviews Molecular Cell Biology，2008，9：809
[7] Wang S，Guo Z，Xia P，et al. Internalization of NK cells into tumor cells requires ezrin and leads to a programmed cell-in-cell death. Cell Res，2009，19：1350-1362
[8] Qian YC，Shi YF. Natural killer cells go inside：Entosis versus cannibalism. Cell Res，2009，19：1320-1321

撰稿人：时玉舫
中国科学院上海健康科学研究所
审稿人：高　福　范　明

通过免疫受体编辑研究是否可以验证存在“反向中心法则”的可能性？

Could the Possibitity of Existence of “Reverse Central Dogma” be Verified by Immune Receptor Editing Research?

经典的克隆选择理论（clonal selection theory）认为，机体内存在众多的淋巴细胞克隆（10^{12}个以上），每一个克隆携带一种抗原受体，特异性识别一种抗原，从而组成一个蕴藏极其多样性的抗原受体库（repertoire）。抗原受体的多样性是在个体发育过程中，由决定抗原受体结构的基因发生重排（rearrangement）而产生的。依据克隆选择理论，T、B 细胞上经重排产生的 BCR/TCR 不再发生改变，那些带有针对自身抗原特异性受体的禁忌 T、B 细胞通过失能（anergy）或凋亡而被阴性选择（negative selection）。具有非自身抗原特异性受体的 T、B 细胞得以成熟并进入外周淋巴组织，同时其重排机制被关闭，不再发生基因重排，以保证其抗原受体单一的性质。

TCR/Ig 基因重排在分子生物学水平上完善了克隆选择学说，阐明了抗原受体多样性形成的机理，也从某种角度解释了大部分免疫现象，特别是免疫自我识别和自稳的机理，但还是不够充分，特别是对于自身免疫性疾病状态下产生的众多针对自身组织抗原的 Ig 或效应 T 细胞，这一理论和衍生的各种其他理论都显得“苍白无力”[1,2]。早在 20 世纪 90 年代初期，笔者在研究双特异性抗体（bispecific antibody，BsAb）时观察到，BsAb 通过一端结合癌细胞，另一端结合 T 细胞可以迅速诱导产生抗肿瘤特异性很强的 T 细胞。理论上，带有针对某一抗原表位特异性 TCR 的 T 细胞的频率是十万分之一。也就是说通过 BsAb“拉”到肿瘤上的 T 细胞中真正具有对相应抗原表位特异的 T 细胞的比例是非常小的，那么“强行拉来的”携带肿瘤抗原无关 TCR 的 T 细胞在结合癌细胞后的命运是什么？它们为何没有稀释比例极低的结合在癌细胞上的肿瘤特异性 T 细胞，而形成不具特异性的 T 活化细胞，也就是我们所称的 LAK 细胞？这个问题至今还令我们感到困惑。当时，笔者曾提出过一个大胆的设想，即在这种特殊的抗原胁迫条件下，非特异性 T 细胞能够通过 TCR 的再重排变成特异性 T 细胞。这个命题其实带来了一个更大的命题，即环境的胁迫能否导致 DNA 的精确排序，从而产生一个与之相应的新蛋白质结构，也即生命科学的中心法则（central dogma）是否存在“反向中心法则”（reversed central dogma）。这一设想当时当然不会被接受，也难以证明。

20 世纪 90 年代初期，几项利用转基因动物开展的实验得到了 Ig 二次重排的

证据。研究发现，在发育过程中，抗自生抗原 B 细胞的 Ig 在与“自身抗原”作用后又开放了重排机制，进行了第二次重排，形成新的抗非自身抗原的 Ig。这一现象被称为受体编辑[3-5]。90 年代后期，又证实了 TCR 也存在受体编辑现象[6]。受体编辑现象的发现进一步补充和扩展了克隆选择学说，并使免疫系统能更适应于对外来抗原的反应，更加符合生物进化适应的规律。机体通过受体编辑给那些在发育早期随机重排而产生的带有抗自身抗原受体的“敌人”一个“改过自新”的机会，使它们从针对自我转化为针对非我并融入到免疫系统中，进一步丰富抗原受体的多样性，体现了生命的简并性和高效性[7]。

抗原受体编辑的发现解释了一部分长期困惑人们的免疫现象，也为研究病毒、肿瘤免疫逃逸，以及自身免疫病发生机理提供了新的视角[8]。更为重要的是，作为淋巴细胞抗原受体重排机制的补充，受体编辑为生物学家提供了一个绝无仅有的、完整的、个体发生和成熟过程中为适应环境变化而完成的分子进化过程，为进一步解析生命过程和研究一些重大的生命科学理论问题提供了很好的模式。

然而目前这些研究结果均是在多克隆水平证明编辑/修正可改变受体特异性，尚没有一家实验室能从单细胞水平追踪二次重排后受体特异性的改变究竟有何特征，是有一定方向性的还是完全随机的？经历了二次重排产生的新的特异性是否还能经历第三次第四次甚至更多次重排转变为其他的特异性，即淋巴细胞抗原受体是否可以依据环境胁迫因素的不断变化而不断地进行相应的修正[9]？依据亲和力成熟理论，B 细胞受抗原刺激后，Ig 基因发生体细胞高频突变，加上抗原的选择，保留表达高亲和力 BCR 的细胞克隆。近年的研究表明，受体编辑很可能也是免疫细胞及产物亲和力成熟的一种调控机制。这些现象都支持笔者在 90 年代初期提出的猜测，即如果受体编辑机制在抗体亲和力成熟过程中起决定作用，那么有可能延伸出这样的推论：环境的胁迫可指导 DNA 的精确重排序，从而产生一个与之相应的新蛋白质结构，也即生命科学的中心法则（central dogma）中存在“反向中心法则”（reversed central dogma）[10]。免疫过程中，机体产生的抗体或特异性 T 细胞对抗原的亲和力逐步提高的过程，以及抗原受体编辑机制的存在为解析这一法则的存在提供了线索。在单个细胞水平上研究抗原受体亲和力变化，以及受体编辑机制在其中的作用，有可能为揭示是否存在这一法则提供直接的依据。

参 考 文 献

［1］ Gay D，Saunders T，Camper S，et al. Receptor editing：an approach by autoreactive B cells to escape tolerance. J Exp Med，1993，177（4）：999-1008

［2］ Tiegs SL，Russell DM，Nemazee D. Receptor editing in self-reactive bone marrow B cells. J Exp Med. 1993，177（4）：1009-1020

［3］ Pelanda R，Schwers S，Sonoda E，et al. Receptor editing in a transgenic mouse model：site,

efficiency，and role in B cell tolerance and antibody diversification. Immunity，1997，7（6）：765-775

［4］ Wang F，Huang CY，Kanagawa O. Rapid deletion of rearranged T cell antigen receptor（TCR）Valpha-Jalpha segment by secondary rearrangement in the thymus：role of continuous rearrangement of TCR alpha chain gene and positive selection in the T cell repertoire formation. Proc Natl Acad Sci U S A，1998，95（20）：11834-11839

［5］ Nemazee D. Receptor editing in lymphocyte development and central tolerance. Nat Rev Immunol，2006，6（10）：728-740

［6］ Zouali M. Receptor editing and receptor revision in rheumatic autoimmune diseases. Trends Immunol，2008，29（3）：103-109

［7］ Meffre E，Davis E，Schiff C，et al. Circulating human B cells that express surrogate light chains and edited receptors. Nat Immunol，2000，1（3）：207-213

［8］ Wagner DH Jr. Re-shaping the T cell repertoire：TCR editing and TCR revision for good and for bad. Clin Immunol，2007，123（1）：1-6

［9］ 罗微，马骊，王小宁．T 细胞受体编辑与修正．中华微生物学和免疫学杂志，2008，28（3）：278-281

［10］ 王小宁．受体编辑/修正——免疫识别与耐受的新模式．第二军医大学学报，2002，23（10）：1071-1074

撰稿人：王小宁

华南理工大学

审稿人：高　福　范　明

人免疫缺陷病毒（HIV）感染为什么会导致艾滋病?

How does Human Immunodeficiency Virus Infection Lead to AIDS?

获得性免疫缺陷综合征（艾滋病）是由人免疫缺陷病毒（HIV）感染引起的一种以破坏人体免疫系统为特征的传染病。虽然发现 HIV 已经 20 多年了，关于它感染为什么会导致艾滋病还没有明确的认识。早期研究发现，HIV 利用细胞表面的 CD4 分子侵入、感染并杀死辅助性 T（Th）细胞[1-3]。由于该细胞在免疫反应中发挥着重要作用，因此人们认为 HIV 感染并杀死 Th 细胞是导致免疫缺陷的主要原因。但是后来诸多的研究表明，绝大多数死亡的 CD4 细胞的并未被 HIV 感染。换句话说，HIV 直接感染在 CD4 细胞减少中的作用非常有限。

如果不是 HIV 直接感染，那么究竟是什么引起 CD4 减少和艾滋病呢?

当机体遭到病毒的侵袭时，会活化免疫系统以达到抵抗病毒保护自身的目的。清除病毒之后，活化的免疫细胞大量凋亡，免疫系统恢复到原来的状态。与其他病毒感染不同，HIV 感染会导致免疫系统长期持续的活化[4-7]，CD4 T 细胞凋亡水平明显升高。在 HIV 感染者中，免疫活化的水平是预后和判定临床治疗效果的重要指标，比血液中病毒载量和 CD4 细胞计数更为准确[8]。猿免疫缺陷病毒（SIV）感染的恒河猴（*Rhesus macaques*）会引起免疫系统活化，这与它们的致病性相吻合。

HIV 感染活化免疫系统的机制可能包括以下几个方面，但问题可能远远比我们想象的要复杂得多。

（1）HIV 感染破坏免疫屏障，引发其他微生物复制而活化免疫系统：HIV 感染导致机体的抵抗力下降，一些条件病原微生物如 CMV、EBV 等复制并进一步刺激免疫系统活化。肠相关免疫淋巴组织在 HIV 感染中遭到破坏，肠道菌群产物如 LPS 等进入血流，刺激巨噬细胞等分泌大量细胞因子（IL-6、TNF 和 IL1β 等），诱导免疫系统细胞活化[9]。

（2）HIV 感染杀伤调节性 T 细胞：调节性 T 细胞（Treg）是一类具有免疫抑制功能的 $CD4^+$ T 淋巴细胞。HIV 感染会导致 Treg 比例降低，其抑制免疫系统的功能下降，打破免疫系统自身平衡，导致免疫系统活化。

（3）HIV 感染诱导Ⅰ型干扰素表达从而诱导免疫活化：SIV 模型研究显示，亚洲猴感染之后，淋巴器官中持续表达干扰素诱导基因，而非洲猴感染干扰素的表达是一过性的。另外，长期的临床观察表明，女性 HIV 感染者疾病的进展要比男性患者快，最近的研究表明，这可能跟女性细胞产生干扰素能力强有关。

虽然上述观点都有相关的证据，但它们具体在 HIV 感染诱导的免疫活化中有

多大的作用，还有待于进一步研究证实。

在艾滋病的研究中，除了临床观察和体外实验系统之外，猿免疫缺陷病毒（SIV）感染实验猴的模型是目前应用最为广泛的系统。SIV 能感染非洲猴（乌白眉猴或非洲绿猴等），也能感染亚洲猴（恒河猴和食蟹猴等），二者病毒复制水平相当，但感染的结果截然不同。亚洲猴会发生艾滋病，而非洲猴在绝大多数情况下不引起 CD4 细胞显著减少，也不会导致艾滋病，因此研究两类猴感染的区别对阐明艾滋病的发病机理具有重要的意义。SIV 感染乌白眉猴[10]和非洲绿猴实验证明，病毒感染细胞的死亡速度与恒河猴相似，证明与 HIV 感染一样，SIV 直接感染也不是 $CD4^+$ T 细胞减少的主要原因。

尽管有如上所述许多临床和实验的结果支持免疫活化与 CD4 细胞减少之间的相关性，但由于缺乏合适的体内实验模型，至今没有直接证据证明它们之间的因果关系，至于免疫活化的真正原因，更有待于进一步的验证。下面介绍的人源化小鼠模型将为解决这一难题提供一个新的体内研究平台。

利用严重的免疫缺陷小鼠，将人造血干细胞（HSC）移植到该小鼠后，能够发育成各种人源的免疫细胞。HIV 接种人源化小鼠后，在其外周血能检测到高水平的病毒复制和抗病毒免疫反应。相对于 SIV 模型，人源化小鼠具有遗传背景清楚、均一性好等优点。另外，在构建人源化小鼠前，可以对造血干细胞进行基因改造（如利用慢病毒载体等），在分子水平研究不同宿主基因对 HIV 感染以及免疫活化的影响。

随着新的研究手段的出现，以及与临床研究数据整合，对 HIV 感染导致艾滋病的机理的研究必将不断地推进，为将来药物开发和疫苗的研制提供可靠的理论基础，达到最终战胜艾滋病的目的。

参 考 文 献

［1］ Klatzmann D，Champagne E，Chamaret S，et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. Nature，1984，312：767-768

［2］ Dalgleish AG，Beverley PC，Clapham PR，et al. The CD4（T4）antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. Nature，1984，312：763-767

［3］ Ho DD，Neumann AU，Perelson AS，et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature，1995，373：123-126

［4］ Giorgi JV，Liu Z，Hultin LE，et al. Elevated levels of $CD38^+$ $CD8^+$ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low $CD4^+$ T cell levels：results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center，Multicenter AIDS Cohort Study. J Acquir Immune Defic Syndr，1993，6：904-912

［5］ Plaeger-Marshall S，Hultin P，Bertolli J，et al. Activation and differentiation antigens on T cells of healthy，at-risk，and HIV-infected children. J Acquir Immune Defic Syndr ，1993，

6：984-993

［6］ Mohri H，Perelson AS，Tung K，et al. Increased turnover of T lymphocytes in HIV-1 infection and its reduction by antiretroviral therapy. J Exp Med，2001，194：1277-1287

［7］ Ribeiro RM，Mohri H，Ho DD，et al. *In vivo* dynamics of T cell activation，proliferation，and death in HIV-1 infection：why are $CD4^+$ but not $CD8^+$ T cells depleted? Proc Natl Acad Sci U S A，2002，99：15572-15577

［8］ Appay V，Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection：causes and consequences. J Pathol，2008，214：231-241

［9］ Brenchley JM，Price DA，Schacker TW，et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. Nat Med，2006，12：1365-1371

［10］ Gordon SN，Dunham RM，Engram JC，et al. Short-lived infected cells support virus replication in sooty mangabeys naturally infected with simian immunodeficiency virus：implications for AIDS pathogenesis. J Virol，2008，82：3725-3735

撰稿人：张立国

中国科学院生物物理研究所

审稿人：高光侠　李　蓬

调节性 T 细胞抑制机制

Mechanisms of Treg Cell-mediated Suppression

调节性 T 细胞（Treg）是机体维持自身免疫耐受的中心组成部分，越来越多的证据表明 Treg 的缺陷是导致自身免疫性疾病的重要原因。调节性 T 细胞的最重要的分子标记是转录因子 Foxp3。Foxp3 是叉头或者翼状螺旋（forkhead/winged helix）转录调节子家族的一个成员，对于 Treg 抑制活性及自身免疫耐受起到不可分割的作用，*Foxp3* 基因突变（Scurfy）或敲除的小鼠，其体内 Treg 细胞数量下降，调节功能缺陷而诱发致死性的自身免疫病变[1,2]。尽管表达 Foxp3 的调节性 T 细胞的重要性已非常清楚，但 Treg 如何来实现免疫调控还是一个免疫学领域的科学难题。

Treg 通过有效抑制自身反应性 T 细胞而使机体免受这些细胞的攻击，Treg 免疫调节的机理问题目前已有多个模型被提出但还存在着很大的争议：①调节性 T 细胞通过分泌大量抑制性细胞因子如 IL-10、TGF-β、IL-35 等抑制效应 T 细胞的激活、增殖及分化；②Treg 产生高水平的 granzyme B 和 Perforin 而直接杀伤效应 T 细胞；③Treg 的表面高表达的 CTLA-4 和 CD25 分子竞争结合 APC 上的 B7 分子和周围环境细胞中的 IL-2（IL-2 sink）从而影响自身反应性 T 细胞的活化；④Treg直接将 cAMP 通过细胞间隙连接注入效应 T 细胞而抑制免疫反应[3]。但是这些分子的缺陷小鼠同*Foxp3* 基因突变小鼠致死性的表型还有较大的差异，而且活化的 T 细胞也表达高水平的 CTLA-4、CD25、granzyme B 等分子，Treg 有可能通过完全未知的途径来实现免疫调控。此外，尽管 T 细胞传统上被认为是 Treg 的直接靶细胞，但许多试验表明 Treg 可以抑制多种免疫细胞的活性和功能，包括 CD4、CD8 T 细胞、B 细胞，自然杀伤细胞（NK）和树突状细胞（DC）。初期的体外抑制试验表明 Treg 和自身反应性 T 细胞之间的细胞-细胞接触是抑制反应所必需，但双光子显微成像试验并不支持这一模型，而大量体内的 Treg 和 DC 的相互作用表明 Treg 有可能通过控制树突状细胞的活化来抑制自身反应性 T 细胞的反应[4]。Treg 表面的 CTLA-4 可以通过结合树突状细胞表面的 B7 而诱导大量的 IDO 产生，过量的 IDO 可改变色氨酸的代谢造成免疫抑制。Treg 产生的抑制性细胞因子 IL-10、TGF-β 也会直接影响树突状细胞的功能[3]。另外，调节性 T 细胞的特异性仍是一个非常重要的问题。许多试验支持调节性 T 细胞具有抑制的特异性，但非特异性感染耐受（infection tolerance）或周围（bystander）细胞抑制现象也在多个试验体系中被证实[3]。一个可能的假设是 Treg 的活化是有效抑制免疫所必需，

虽然这种活化依赖于特异的 TCR-MHC 的相互作用，但活化后的 Treg 可通过分泌 IL-10、TGF-β 等多种细胞因子来非特异性抑制自身反应性 T 细胞。最后，Treg 的作用位点是在淋巴节、脾脏等二级淋巴器官还是在炎症组织处，目前还存在着许多争议[5]。当然，Treg 有可能在所有的部位都发挥着重要的免疫调节作用。

这一系列的问题反映了我们对 Treg 免疫调节的分子基础还不了解，而且非生理条件的体内和体外试验也是造成困惑的重要原因，建立的 Treg 特异性的敲除小鼠模型将为最终解决这一问题的提供重要手段[6,7]。而对调节性 T 细胞研究的日益深入必将在治疗癌症、自身免疫疾病、过敏和增强医学移植的忍耐性方面提供新的机遇。

参 考 文 献

[1] Brunkow ME，Jeffery EW，Hjerrild KA，et al. Nat Genet，2001，27（1）：68-73
[2] Fontenot JD，Gavin MA，Rudensky AY. Nat Immunol，2003，4（4）：330-306
[3] Tang Q，Bluestone JA. Nat Immunol，2008，9（3）：239-244
[4] Tang Q，Adams JY，Tooley AJ，et al. Nat Immunol. 2006，7（1）：83-92
[5] Chen Z，Herman AE，Matos M，et al. J Exp Med. 2005，202（10）：1387-1397
[6] Rubtsov YP，Rasmussen JP，Chi EY，et al. Immunity，2008，28（4）：546-558
[7] Zhou X，Jeker LT，Fife BT，et al. Selective miRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity. J Exp Med，2008，205（9）：1983-1991

撰稿人：周旭宇
中国科学院微生物研究所
审稿人：高　福　范　明

Ca^{2+}浓度增加的不同生物学功能是如何实现的？

How the Functions of the Ca^{2+} Concentration Increasing Achieved?

Ca^{2+}是目前发现的最多能的细胞内信使，它能调节目前已知的几乎所有细胞的功能和反应。Ca^{2+}作为重要的信号传递分子，最早是由 Sydney Ringer 于 1883 年在研究Ca^{2+}对动物机体和组织中的作用时发现的。Ringer 发现Ca^{2+}对于鱼的存活、骨骼肌和心脏的收缩以及卵的受精和胚胎的发育等都至关重要[1]。几乎在同时 Locke 和 Overton 也发现Ca^{2+}对于神经和肌肉之间的冲动传递也非常重要[2]。然而，在随后的 50 年里，Ca^{2+}信号这一领域的研究没有大的进展。直到 20 世纪 40 年代，Heilbrunn 在他编写的 *An Outline of General Physiology* 一书中，提出了Ca^{2+}作为一种普遍存在的细胞内信使控制着所有细胞的活动，并得到了广泛关注[3]。而关于Ca^{2+}信号研究的热潮则始于 60 年代。越来越多的研究证明并明确了Ca^{2+}是维持机体细胞正常功能非常重要的离子，它维持细胞膜两侧的生物膜电位，维持正常的神经传导功能，以及维持正常的肌肉收缩与舒张功能以及神经-肌肉传导功能，同时参与一些激素的作用。近期的研究发现，Ca^{2+}还参与着更广泛的生理过程，如细胞兴奋性的控制、细胞代谢、细胞形态的维持、细胞周期的调控等[4]。

技术的进步带动了科学的发展。1976 年，德国马普生物物理研究所的 Neher 和 Sakmann 创建了膜片钳技术（patch clamp recording technique）[5]。这是一种以记录通过离子通道的离子电流来反映细胞膜单一或多个离子通道分子活动的技术，因此它和基因克隆技术（gene cloning）并驾齐驱，也给Ca^{2+}的研究带来了巨大的前进动力。几乎同时，Ca^{2+}敏感的荧光指示剂/探针的问世和应用也使得深入探究细胞内Ca^{2+}的实时变化成为可能。最重要的是，Ca^{2+}荧光探针和膜片钳技术的结合可以互相促进，可以同时记录在自然环境或状态下细胞的Ca^{2+}电流和Ca^{2+}的流动及分布等，因而这两项技术带动Ca^{2+}信号的研究进入了一个新阶段，如细胞内Ca^{2+}的梯度和跨膜Ca^{2+}流动都有了精确的记录。正是这些方法的创立为最近 20 年我们从细胞和分子水平对细胞内Ca^{2+}的调节和作用有了较为深入的理解。最近多光子共聚焦显微镜的问世，结合电生理的方法已经应用于活体的全脑，来实时观察神经-胶质网络的活动，结合Ca^{2+}的荧光探针可以长时间观察和记录Ca^{2+}信号，因而这一技术将一定带来令人兴奋的发现[6,7]。

近 40 多年来对Ca^{2+}的转运调节和作用已经有了较为详细的研究。直接参与调控Ca^{2+}信号的蛋白家族成员很有限（如Ca^{2+}通道和转运载体），而且这一调节系

统具有很好的保守性，广泛地在各种细胞中表达。细胞内 Ca^{2+} 的释放主要是由这两种胞内通道控制的，Ca^{2+} 的逆浓度梯度的转运涉及 4 个质膜和 3 个内质网膜上的钙泵，并由细胞质膜上的钠钙交换泵的协助来完成。线粒体的 Ca^{2+} 转运是由特异性的线粒体上的 Ca^{2+} 转运子和钠钙交换泵的协助来完成的。正是这些调控元件的不同组合精细地调节着 Ca^{2+} 信号通路，而这些组合又是由外界环境来控制的，从而实现快速的细胞内重构和适应。所有这些系统都是由 Ca^{2+} 自身来调节的，因此尽管调节的分子机制是多样和多变的，但表现出的功能却是非常强大的[6]。

尽管目前对细胞和细胞外，以及细胞内的 Ca^{2+} 转运的分子机制比较明确。但是，细胞内 Ca^{2+} 的变化是如何产生如此众多的不同生物学作用的？一个令人着迷又困惑的问题是 Ca^{2+} 信号的特异性。实际上，Ca^{2+} 的波动控制着令人难以置信的又极其多样的细胞内过程，又经常涉及许多相互联系的第二信号的级联反应。效应系统是如何辨别或区别相应的信号？相应的信号又是如何被启动的？以及 Ca^{2+} 又是如何调节这些信号的？其中的观点之一就是，Ca^{2+} 信号是由 Ca^{2+} 的波幅（amplitude）、频率（frequency）和形态（shape）或者是任意的组合来编码的，尽管这一编码系统的意义尚没有被完全阐明。当然 Ca^{2+} 信号也与其分布的极度区域化有关，局部 Ca^{2+} 的浓度梯度可以存在 1 毫秒到几秒，并在极其有限的空间里或是相对较大的细胞亚区域内，从而也可能产生了空间的编码信号。然而，对决定局部 Ca^{2+} 区域的半衰期和空间范围仍然知之甚少。关于信号的编码和去编码对于理解 Ca^{2+} 信号控制基因的表达非常重要。细胞核内 Ca^{2+} 的变化和基因转录过程是相互连接的，然而 Ca^{2+} 是如何携带特异的信息进入细胞核内来调节特异的基因表达目前实际上完全不清楚[6,8]。

细胞内 Ca^{2+} 的调节过程存在着巨大的差异，如发挥作用的时间范围可以从几微秒（如胞外分泌作用）到几个月甚至几年（如记忆过程）。相对较小的 Ca^{2+} 平衡的紊乱就可以导致致命的后果，Ca^{2+} 不但作为无所不能的细胞内信使，它还可以控制细胞的存活和引起细胞的死亡。当细胞受到过度刺激而引起细胞浆内钙超载时，这种 Ca^{2+} 的超载可以有效地杀死多种类型的细胞，如在急性梗死或外伤这样严重的病理情况下。Ca^{2+} 平衡的极细微的变化可以持续几个月和几年从而引起与细胞衰退和死亡相关的多种疾病，如慢性 Ca^{2+} 紊乱可以引起神经退行性疾病等。Ca^{2+} 的异常调控与多种疾病有关联，但是对于 Ca^{2+} 信号的病理学研究尚刚刚开始。今后将研究 Ca^{2+} 信号的紊乱导致的病理变化，以及在完整的个体或组织中研究生理或病理相关的刺激对 Ca^{2+} 的影响等。这些研究也将为今后疾病的治疗提供基础[9]。

参 考 文 献

［1］ S Ringer. The influence of saline media on fishes. J Physiol，1883，4：6-8

[2] F S Locke. Notiz uber den Einfluss，physiologisher Kochsalzlosung auf die Eregbarkeit von Muscel and Nerve. Zentralbl Physiol，1894，8：166-167

[3] L V Heilbrunn. An Outline of General Physiology. Philadelphia：Saunders，1943

[4] S Hagiwara，L Byerly. Calcium channel. Annu Rev Neurosci，1981，4：69-125

[5] E Neher，B Sakmann. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. Nature，1976，260：799-802

[6] Ole H Petersen，Marek Michalak，Alexei Verkhratsky. Calcium signalling：Past，present and future. Cell Calcium，2005，38：161-169

[7] C Stosiek，O Garaschuk，K Holthoff，et al. *In vivo* twophoton calcium imaging of neuronal networks. Proc Natl Acad Sci USA，2003，100：7319-7324

[8] Nigel K Spurr. Genetics of calcium-sensing：regulation of calcium levels in the body. Current Opinion in Pharmacology，2003，3：291-294

[9] M Brini. Ca^{2+} signalling in mitochondria：mechanism and role in physiology and pathology. Cell Calcium，2003，34：399-405

撰稿人：朱玲玲　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人：高　福

动物体内时间节律的调控网络是怎样的

The Regulation Network of Temporal Rhythm in Animal

早在地球上第一个单细胞生物出现以前，地球已经自转了大约 20 亿年。为了适应这种昼夜环境周期性的变化，生物界的各种功能都有明显的昼夜节律（circadian rhythm），因此昼夜节律指接近 24h 的昼夜节律。人们最熟悉的昼夜节律就是每天的睡眠与觉醒节律。此外，人体所有的其他生理功能也均表现出稳定的昼夜节律，包括体温、代谢、内分泌、心血管、认知、细胞分裂、基因表达、对疾病的易感性以及对药物/毒物、射线的反应性等，因此昼夜节律是正常生理功能的一个重要组成部分。经过长期进化，生物机体内发育分化出一个特殊的器官———生物钟（circadian clock），用来协调各种不同组织与器官的昼夜节律。生物钟是机体固有的，具有内源性和自我维持运转的特点，在无外界环境信号的作用时，依然以近于 24h 周期自激（free running）进行。在自然状态下，生物钟接受外界光-暗和温度等周期信号，调整自身的位相，与外界环境保持同步[1]。

多细胞生物的生物钟可分为母钟（主钟、中枢钟）和子钟（外周钟、细胞钟）。前者位于中枢部位，处于进化不同阶段的生物，母钟所在位置不同。无脊椎动物的母钟位于视网膜；爬行类动物的母钟位于松果体（pineal gland）；哺乳类动物的母钟位于下丘脑的视交叉上核（suprachiasmatic nucleus，SCN）[2]，由此发出信息控制全身的节律活动。子钟位于组织细胞内，调控效应器的节律[1]。我们这里着重介绍一下哺乳动物位于视交叉上核（SCN）的生物钟。

在解剖学水平上，1972 年，Robert Moore 与 Irving Zucker[3] 两个研究组先后发现了一个新的神经核团，称为视交叉上核。这个核团是哺乳类动物生物钟的所在地。SCN 的发现极大地推动了时间生物学的研究。Moore[4] 的研究组同年还发现了一个新的神经通路，从视网膜直接投射到视交叉上核，称为视网膜-下丘脑束（retinohypothalamic tract，RHT）。RHT 是一条单突触神经通路（mono synaptic pathway），它将视网膜的光刺激信号直接传给 SCN。SCN 根据 RHT 传来的外界光信息，对昼夜节律发出重新调定的指令，以使生理功能适应外界明暗环境的变化。RHT 不同于经典的视觉成像通路（image forming visual pathway），它不参与视觉成像功能。RHT 起源于一组独特的视网膜光感细胞，这组光感细胞既不同于视锥细胞，也不同于视杆细胞，而是含有一种新色素 melanopsin 的视网膜神经节细胞（retinal ganglion cell，RGC）。这组 RGC 在视网膜上的分布与其他光感细胞不同，不是集中分布在黄斑区，而是均匀地分布在整个视网膜。另外，谷氨酸（glu-

tamate，Glu）是 RHT 的主要神经递质[5]。丹麦神经解剖学家 Jens Hannibal[6,7]证明 PACAP（pituitary adenylate cyclase activating peptide）也是 RHT 的主要神经递质之一。

在细胞水平上，首先，SCN 可以 24h 有节律地起搏。SCN 是一对很小的核团，每侧约有 1 万个神经细胞。这些神经细胞能够自主地产生 24 h 节律。1995 年，Welsh 等[8]用多电极长期记录（multi electrode array）显示 SCN 的每一个神经细胞都可以独立地产生 24 h 节律。其次，SCN 可以感受外界环境的时间变化，使 SCN 本身的节律适应外界环境的变化。SCN 内的神经细胞有不同的分工，一部分神经元作为起搏细胞（pace making cell），其功能类似于心脏的窦房节细胞。而另一部分神经元则作为相位调节细胞（phase resetting cell），这类细胞直接接受来自 RHT 的信息，再把经过整合的信息传送到起搏细胞[9]。最后，SCN 可以协调体内不同组织与器官的节律，使其与 SCN 的节律同步。1987 年，Watts 与 Swanson[10,11]发现，SCN 的输出通路大部分由短纤维投射到邻近的下丘脑神经内分泌核团，提示 SCN 主要是通过调节下丘脑的神经内分泌功能而影响外周组织与器官。

在分子水平上，生物钟可以分为三个部分：①生物振荡器（oscillator），由一组呈节律表达的基因及其编码的蛋白质组成。节律基因启动后，经转录、翻译生成相应的蛋白质。当此蛋白质浓度达到一定程度，反馈作用于自身基因的启动部位，使其浓度高低以 24h 周期进行振荡[12]。在昼夜振荡反馈回路中，正性成分（positive element）启动生物钟基因，使之进行表达；负性成分（negative element ）阻断正性成分的作用，使表达减弱或停止[13]。振荡器是生物钟运作的核心元件，它接收外界传入的信号，引起相应的基因表达，进而控制钟信号的输出路径，使生物体展现昼夜节律活动；②输入系统，接受环境周期信号传入到振荡器，调节相关基因的表达，矫正节律位相，由感受器和传入路径组成。最重要的授时因子（zeitgeber）为光-暗和温度；③输出系统，包括与信号输出有关的钟基因和一些钟控基因（clock-controlled gene，CCG），将母钟节律振荡信号经体液和神经途径送达效应器，调节其生理、生化和行为的昼夜节律[14]。

生物钟基因运作机制的深入研究对揭示生命节律性活动的本质、生物进化的分子基础和开拓遗传学研究新领域具有重要意义。虽然，动物体内时间节律的调控网络已经初见端倪，但是还有很多问题有待研究。例如，随着节律基因的发现，这些基因的转录及转录后调控，以及蛋白质的翻译后修饰已经引起了人们的关注。目前已经发现，节律基因 *per* 的转录因子 CLK/CYC 可以招募 CBP 蛋白，引起组蛋白的乙酰化，从而对 *per* 基因的转录起到调控作用；另外，*per* 基因在翻译为 PER 蛋白后可以被磷酸化，从而被降解[15]。节律基因的转录调控以及其蛋白质的翻译后修饰使得对生物节律更加细致的调控成为可能，也为理解生物节律提供了新的视角。但是，以上这一领域的大部分内容尚不为人知，需要更进一步的探讨。其次，

随着 miRNA 在生物体中重要功能的发现，其在生物节律中的作用也渐渐被人们所认识，如在 SCN 中的 miRNA-（miR-）132 和 miR-219 已经被证实参与了生物节律的调控[16,17]。但是，目前 miRNA 在生物节律中作用的研究也才刚刚开始。最后，时间节律的失调和一些病理现象的关系也正在引起人们的关注，如目前已经通过流行病学以及遗传学的证据表明，生物节律的失调与癌症的发生有着直接的关系，一些参与生物节律的分子也被证明参与了细胞周期的调控，因此生物节律的失调会导致细胞增殖的紊乱。对生物节律以及癌症关系的了解可以为我们攻克癌症提供新的思路[18]。

所以，要彻底弄清动物时间节律的调控机制，还需要我们对诸多相关问题做更加深入的探讨。

参 考 文 献

[1] Li JC. The circadian pacemaker of mammals. Trends of Biological Science，1983， （6）：13-18

[2] Morin LP. The circadian visual system. Brain Res，1994，19（1）：102-127

[3] Moore RY，Eichler VB. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain Res，1972 ，42（1）：201 - 206

[4] Moore RY，Lenn NJ . A retinohypothalamic projection in the rat. J Comp Neurol ，1972 ，146（1）：1 - 14

[5] Ding JM，Chen D ，Weber ET，et al . Resetting the biological clock ：mediation of nocturnal circadian shifts by glutamate and NO . Science ，1994 ，266（5191）：1713 - 1717

[6] Hannibal J ，Ding JM，Chen D ，et al . Pituitary adenylate cy claseactivating peptide（ PACAP）in the retinohypothalamic tract ：a potential daytime regulator of the biological clock. J Neurosci ，1997 ，17（7）：2637 - 2644

[7] Hannibal J ，Hindersson P ，Knudsen SM，et al . The photopig ment melanopsin is exclusively present in pituitary adenylate cyclaseactivating polypeptide containing retinal ganglion cells of the retinohypothalamic tract . J Neurosci ，2002，22（1）：RC191

[8] Welsh DK，Logothetis DE ，Meister M，et al. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. Neuron，1995，14（4）：697 - 706

[9] Antle MC ，Silver R. Orchestrating time ：arrangements of the brain circadian clock. Trends Neurosci ，2005 ，28（3）：145

[10] Watts AG，Swanson LW，Sanchez W G. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus：I. Studies using antero grade transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin in the rat. J Comp Neurol ，1987 ，258（2）：204 - 229

[11] Watts AG，Swanson LW. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus ：II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemis-

try in the rat . J Comp Neurol ，1987 ，258 (2) ：230 - 252
[12] Ripperger JA ，Schibler U. Circadian regulation of gene expression in animals. Curr Opin Cell Biol ，2001 ，13 ：357-362
[13] Dunlap JC. Molecular bases for circadian clock. Cell ，1999 ，96 ：271-290
[14] Young MW. Circadian rhythms marking time for a kingdom. Science，2000 ，288 ：451-453
[15] Frank W. Remodeling the clock：coactivators and signal transduction in the circadian clockworks. Naturwissenschaften ，2009，96：321-337
[16] Cheng H，Obrietan K. Revealing a role of microRNAs in the regulation of the biological clock. Cell Cycle，2007，6 (24)：3034-3038
[17] Pegoraro M，Tauber E. The role of microRNAs (miRNA) in circadian rhythmicity. Journal of Genetics，2008，87 (5)：505-551
[18] Saurabh S，Paolo S C. Metabolism and cancer：the circadian clock connection. Nature Review：Cancer，2009，9：886-896

撰稿人：朱玲玲　范　明
军事医学科学院基础医学研究所
审稿人：高　福

生理性低氧的规律与意义

The Rule and Meaning of the Physiological Hypoxia

氧气是除了绝对厌氧的细菌以外的所有生物赖以生存的元素。氧也是生命进化过程中最重要的环境因素之一。30 亿年前，能够进行光合作用的有机体开始出现，它们在随后的几十亿年里开始向大气释放氧气。大气中的氧浓度作为一个关键性的因素而影响到生命的起源。5 亿年来，生物有机体以各种适应机制来应对氧浓度的升高，如真核生物的有氧代谢也正是进化的结果。生命的起源是从低氧环境中开始的，哺乳动物的发育也是在低氧环境中。在胎盘形成以前，胚胎是在约 3% 的氧环境中发育生长的[1]。生命发育之初是在相对低氧的环境中，也即在细胞水平的相对低氧对机体的正常发育是至关重要的。到目前为止，根据现有的文献研究报道，哺乳动物组织间隙中的氧含量平均为 1%～5%（相对于大气中的 21%的氧含量）。氧浓度在不同的组织中是不同的，如在循环系统及一些内脏器官（肝、肾、心脏）中为 4%～14%，在脑组织中为 0.5%～7%，在眼中为 1%～5%，在骨髓中则为 0～4%。因而，这种较低的氧浓度通常被称之为“生理性低氧”，事实上是机体内的“常氧”[2,3]。

适度的低氧对于维持多种类型细胞的功能具有重要的作用[4]，但是对于不同类型的细胞其确切的氧的需求目前尚不知晓。一方面，氧的存在对于有氧呼吸是必需的。氧作为线粒体电子传递的最终接受器，产生 ATP 为细胞的各种活动提供能量，来维持细胞代谢的正常流通。另一方面，过量的氧会导致 ROS 的大量产生而对细胞造成氧化损伤[1]。对细胞的代谢和分子生物学的研究表明，适度的低氧（大于 1%，相对于大气中 20.9%的氧含量）就能为满足细胞线粒体呼吸而提供足够的能量，并能保持细胞的持续增殖。相反，在无氧或小于 1%的氧环境下，细胞中线粒体电子链的传递才受到抑制，细胞的凋亡才被启动，不能提供足够的能量来支持细胞的增殖，而导致细胞生长停止，因此在一定范围内的低氧是和细胞的生存相适应的。这种生理性的低氧（1%～10%）相对于导致细胞代谢停滞的病理性低氧或缺氧（小于 1%）而言，代表了哺乳动物组织中的自然存在的环境。低氧无疑更接近体内环境，应当被应用于研究真正的细胞生物学的实验中。然而，目前大多数哺乳动物细胞的培养都是在体外“非生理性氧浓度”（大气氧浓度 20.9%）下进行的，除了源自直接与空气接触的组织（如皮肤表面、口腔、呼吸系统上皮）的成熟细胞外，这对于大多数细胞来说是一个高氧环境，因此为了探索真正的细胞生理过程，应该在最接近体内不同细胞类型的合适氧浓度下进行研究。特别是如何根据细胞类型的不同和他们在体的实际生理性的氧环境下来进行研究，如何提供满足不同

类型细胞代谢需求的适合的氧含量，将是今后人们需要思考和解决的关键问题[3]。

对于氧含量的测量方法，主要是利用氧特异性的化学和物理学特性而开发的。由于测量手段的滞后，不同部位的实际氧浓度也没有准确的数据。目前主要有以下几种方法：①极谱法（ploarography），这是最早使用的利用氧敏感的探头直接测量组织中氧含量的方法，但由于其损伤和不稳性，目前已很少使用；②光学法（optical），是最近问世的利用氧猝灭的荧光探头测量活体组织中的氧含量，且相对较稳定和灵敏的一种方法；③电子顺磁共振法（electron paramagenetic resonance，EPR）；④核磁共振法（nuclear magenetic resonance，NMR）；⑤正电子发射 X 断层术（positron emission tomography，PET）和质谱法（massspectrometric，MS）。后三种方法是无损伤性的，但只能反映机体组织的相对缺氧或低氧状态，而不能直接给出组织中的实际氧含量。另外，还有一些指标如血氧饱和度、细胞色素氧化酶的氧化还原状态和 NADH 的氧化还原状态等可以间接地反映机体的氧水平。然而以上这些方法由于各自本身存在的缺点如测量的稳定性、对机体的损伤性、仪器本身的灵敏度，以及测量的部位和时间空间等问题[5,6]，因而目前对于机体组织实际氧含量测定的结果也存在着很大差异，如不同种属、不同部位、不同生理状态（麻醉和清醒）和实验条件（深度麻醉和浅麻醉）等问题，而导致实际测量的氧含量也存在较大的变化，因而这些问题的解决都有待于测量技术方法的进步而需要进行系统和深入的探究。

参 考 文 献

［1］ Genbacev O. To proliferate or to divide-to be or not to be. Early Pregnancy，2001，5：63-64

［2］ Morrison S J，Csete M，Groves A K，et al. Culture in reduced levels of oxygen promotes clonogenic sympathoadrenal differentiation by isolated neural crest stem cells. J Neuroscience，2000，20：7370-7376

［3］ Zoran I. Hypoxia or *In Situ* Normoxia：The Stem Cell Paradigm. J Cell Physiol，2009，9999：1-6

［4］ LL Zhu，LY Wu，DT Yew，et al. Effects of hypoxia on the proliferation and differentiation of NSCs. Mol Neurobiol，2005，31：231-242

［5］ Vanderkooi JM，Erecinska M，Silver IA. Oxygen in mammalian tissue：methods of measurement and affinities of various reactions. Am J Physiol，1991，260：C1131-C1150

［6］ Obinna N，Joseph C. Lamanna，Brain Tissue Oxygen Concentration Measurements. Antioxid Redox Signal，2007，9：1207-1219

撰稿人：朱玲玲　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人：高　福

细胞信号转导网络的内稳态平衡机制

The Homeostasis of the Cell Signal Transduction Network

内稳态（homeostasis）是生物对环境耐受的一种主要机制，存在于各种生物体内。生理学家把正常机体在神经系统和体液的调节下，通过各个器官、系统的协调活动，共同维持内环境的相对稳定状态称为内环境的稳态即内稳态[1]。具有内稳态机制的生物可以借助内环境的稳定而相对独立于外界条件的控制，是进化发展过程中形成的机制。19 世纪，法国生理学家 C. 贝尔纳提出高等生物的细胞是生活在一个与体外环境不同的内部环境之中。随后，美国生理学家 W. B. 坎农采用 homeostasis 一词表述内环境恒定现象及其调节过程。homeostasis 是由希腊文 homoios（类同之意）和 stasis（稳定之意）两词组成，称为“内稳态”。他提出内环境的稳定不是使生物与环境隔开，而是不断地调节体内的各种生理过程。稳态是一种动态的平衡不是恒定不变，各个组成部分不断地改变，而整个系统却保持稳定。内稳态描述了维持内环境稳定的自我调节过程。它涉及全身每一器官、组织和细胞活动的调节，表现在生物系统的各级水平，从细胞到整体[2]。

血液是内环境的重要组成部分。人体在新陈代谢过程中会产生许多酸性物质，如乳酸、碳酸，而食物（如蔬菜、水果）中往往含有一些碱性物质，如碳酸钠。当机体剧烈运动时，肌肉中产生大量的乳酸、碳酸等物质并且进入血液。乳酸进入血液后，就与血液中的碳酸氢钠发生作用，生成乳酸钠和碳酸。碳酸又可以分解成二氧化碳和水。而血液中增多的二氧化碳会刺激控制呼吸活动的神经中枢，促使增强呼吸活动，增加通气量，从而将二氧化碳排出体外。当碳酸钠进入血液后，就与血液中的碳酸发生作用，形成碳酸氢盐，而过多的碳酸氢盐可以由肾脏排出。这样，由于血液中缓冲物质的调节作用，可以使血液的酸碱度不会发生很大的变化，从而维持在相对稳定的状态[3,4]。机体生理状态的失衡会导致机体调节机制的衰竭，这种全身生理过程的调节主要是靠神经系统和内分泌系统的相互作用来实现的。其中交感神经系统起着主导作用，控制着身体的其他调节系统。例如当气温升高时，交感神经系统一方面使皮肤表层的毛细血管舒张并刺激汗腺分泌汗液，另一方面促使肾上腺释放更多的肾上腺素到血液加速身体的代谢过程。这些相互作用的结果将使体温维持相对恒定。可见，内环境的稳态是机体进行正常生命活动的必要条件。当内环境的稳态遭到破坏时，就会引起细胞新陈代谢紊乱并导致疾病[5]。

机体的内稳态平衡机制已经有了较深入的研究，但是在细胞层面的信号转导网络的内稳态平衡机制尚不明确。细胞通讯及其相关的信号转导是多细胞机体成为一

个高度统一整体的基础，而机体内相对稳定的内环境正是不同细胞之间相互通讯进行信号传递的结果。各种信号转导分子相互识别、相互作用将信号进行转换和传递，构成信号转导通路（signal transduction pathway）。不同的信号转导通路之间发生交叉调控（cross talk），形成复杂的信号转导网络（signal transduction network）系统[6]。细胞通讯的主要目的是维持细胞基本的形态、功能、代谢及存活，调控以及协调维持整个机体的生命活动，其中细胞的信号转导是维持多细胞生物体内的细胞通讯的基础。它的基本模式是：细胞外信号分子被细胞表面的受体所识别，然后激活细胞内信号转导蛋白，逐步传递细胞信号，使特定的靶蛋白如参与代谢的酶、基因调节蛋白、细胞骨架蛋白等被激活，由此引起细胞的各种反应，如代谢活性的变化、基因表达的变化，或者是细胞形状的变化、细胞的运动等以维持机体内环境的相对稳定[7]。

以丝裂原激活的蛋白激酶（MAPK）信号途径为例。MAPK 级联激活是多种信号通路的中心，属于蛋白质丝/苏氨酸激酶类，在多种受体信号传递途径中均具有关键性作用。MAPK 被激活后转移至细胞核内，使一些转录因子发生磷酸化，改变细胞内基因表达的状态。另外，它也可以使一些其他的酶发生磷酸化并使之活性发生改变。MAPK 家族成员的底物大部分是转录因子、蛋白激酶等。MAPK 调控的生物学效应是参与多种细胞功能的调控，尤其是在细胞增殖、分化及凋亡过程中，是多种信号转导途径的共同作用部位。MAPK 信号通路包括细胞外调节激酶（extracellular regulated kinase，ERK）、c-Jun N 端激酶/应激激活的蛋白激酶（c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase，JNK/SAPK）、p38-MAPK 三条途径。ERK 广泛存在于各种组织细胞，参与细胞增殖与分化的调控。多种生长因子受体、营养相关因子受体等都需要 ERK 的活化来完成信号转导过程。JNK 至少又由 JNK1、JNK2 和 JNK3 三个亚类组成。JNK 家族是细胞对各种应激原诱导的信号转导的关键分子，参与细胞对射线辐射、渗透压、温度变化等的应激反应。一些细胞因子，如 TGF-β 也可通过 JNK 发挥作用。p38-MAPK 家族也是转导细胞应激反应的重要分子，主要参与紫外辐射、炎症细胞因子、凋亡相关受体（Fas）等信号转导。MAPK 被激活以后，可激活下游的多种靶蛋白，包括一系列转录因子（transcription factor）和其他蛋白激酶。MAPK 可进入细胞核内直接调节某些转录因子-DNA 复合物的活性，启动一系列基因的表达，从而调节细胞周期。其次，MAPK 磷酸化级联反应还是多种应激如渗透压、活性氧、机械刺激等的共同信号通路，在形成细胞信号转导网络中占有重要地位。MAPK 所涉及的各个层次信号蛋白本身、其调控者或效应者都是多个，从而组成一个十分庞大的信号网络，形成多种途径信号的“交叉调控”。这些信号转导途径之间不是孤立的，而是存在着复杂的相互作用[8,9,10]。

细胞外信号常常可同时引起多条信号转导途径的活化或抑制，这些信号途径相

互作用，甚至形成一个复杂的信号转导网络，特别是细胞常常处于多种信号分子组合的共同作用下，细胞信号网络的存在就成为更普遍的现象。通过这个网络对不同信号途径进行整合，最后引发特定的细胞反应。细胞信号转导网络具有一定的自我修复和补偿能力，但是关于细胞信号转导网络的运行机制，目前还不十分清楚[11,12]。

参 考 文 献

［1］ Wolfgang W. The Neuronal Environment：Brain Homeostasis in Health and Disease. Totowa：Humana Press，2001

［2］ E Cheraskin. Human health and homeostasis：measuring and mapping the steady state. Journal of Orthomolecular Medicine，1996，11：1-13

［3］ Sandroni S，Sandy LG. Homeostasis without reserve-the risk of health system collapse. N Engl J Med，2003，348：1410

［4］ Clancy J，McVicar A. Intermediate and long-term regulation of acid-base homeostasis. Br J Nurs，2007，16：1076-1079

［5］ Wangemann P. Supporting sensory transduction：cochlear fluid homeostasis and the endocochlear potential. J physiol，2008，576：11-21

［6］ Lewis J. From signals to patterns：space，time，and mathematics in developmental biology. Science，2008，322：399-403

［7］ Brandman O，Meyer T. Feedback loops shape cellular signals in space and time. Science，2008，322：390-395

［8］ Weston CR，Lambright DG，Davis RG. Signal transduction. MAP kinase signaling specificity. Science，2002，296：2345-2347

［9］ Chang L，Karin M. Mammalian MAP kinase signalling cascades. Nature，2001，410：37-40

［10］ Weston CR，Lambright DG，Davis RG. Signal transduction：signaling specificity—a complex affair. Science，2001，292：2439-2440

［11］ Guss KA，Nelson CE，Hudson A，et al. Control of a genetic regulatory network by a selector gene. Science，2001，292：1164-1167

［12］ Noselli S，Perrimon N. Signal transduction. Are there close encounters between signaling pathways? Science，2000，290：68-69

撰稿人：朱玲玲　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人：高　福

衰老的本质

The Nature of Aging

衰老（aging，senescence）又称老化，是在正常状况下生物发育成熟后，随年龄增加，自身机能减退，内环境稳定能力与应激能力下降，结构、组分逐步退行性变，趋向死亡的不可逆转的现象。对衰老的研究一直是生命科学领域的最为基本和重要的问题之一，尽管经各国科学家不懈努力已经取得了很大进展，但对衰老机制的了解尚十分有限[1]。同时衰老是一个持续发展的、动态的、缓慢渐进而复杂的过程，这个过程从生长期结束后逐渐开始，它的影响要到老年期通过人体系统功能失调、器官功能衰退、细胞变性及蛋白质和酶分子结构变化逐渐表现出来。影响衰老的因素有很多，各种社会因素、经济、疾病、营养、遗传、生活习惯、环境及精神状态等都起着一定的作用，是很多因素共同作用的结果。目前还没有一种理论能解释所有的衰老现象[2]。

有关衰老机理的学说，比较获得认可的有大约几十种，其中最具有影响力的学说就是 1956 年由英国学者哈曼（D. Harman）提出的自由基学说（free radical theory of aging），该学说认为引起人类衰老的主要原因是细胞代谢过程中不断产生自由基[3]。低浓度适量的自由基为人体生命活动所必需，但过量的自由基会引起机体损伤，破坏细胞膜及其他重要成分，使蛋白质和酶变性，当自由基引起的损伤积累战胜了机体的修复能力，导致细胞分化状态的改变甚至丧失，从而导致和加速衰老。这一学说受到了很高的重视，但随着研究的深入，自由基学说的“核心衰老学说”地位已经动摇，因为这个学说有许多牵强之处，也遇到了许多不同的实验结果造成的困惑和反驳[4,5]。

近期衰老的分子水平研究表明，端粒（telomere）与衰老密切相关。1973 年，Olovfnikov 博士首次提出了端粒丢失与衰老关系的理论[6]。端粒是染色体自然末端的特殊结构，由含鸟嘌呤核苷酸的简单重复序列组成，可由自带引物的端粒酶合成。在端粒酶处于抑制状态的细胞分裂时，DNA 不完全复制会引起端粒 DNA 的少量丢失，随着细胞分裂次数的增加，端粒不断缩短。如果端粒长度得不到维持，缩短到一定程度，就不能保护染色体的稳定，细胞最终死亡。

人类端粒长度为 2～15kb，由于存在末端复制问题，正常人体细胞一般以50～200bp 的速度丢失 DNA 序列，DNA 每复制 1 次，端粒 DNA 就会丢失 50～200bp，到细胞衰老时约有 4000bp 核苷酸丢失。近年来，引起遗传衰老学说专家们极大兴趣的是细胞分裂研究中的一些重要发现，即人体成纤维细胞染色体在复制过程中的

极限现象（Hayflick 细胞分裂极限，一般低于 50～60 次）和染色体端粒由于复制不完全而不断缩短的现象，染色体 DNA 每复制一次，端粒就缩短一截，人体成纤维细胞端粒每年缩短十几个碱基[7]，因此端粒也被称为细胞的“生命钟”[8,9]。

据此，又有人提出衰老基因学说，认为人体内有衰老基因和长寿基因，它们并不是指某个基因，而是泛指那些具有引起衰老和延缓衰老作用的基因。深入的研究发现，至少有 60 种基因与人的衰老有关。蛋白质生物合成的延长因子 *EF-la* 基因可使其他果蝇寿命延长 40%，说明 *EF-la* 基因有长寿作用[10]。*p16* 基因是一种抑癌基因，也是人类细胞衰老的主导基因。研究表明，*p16* 基因不仅是细胞衰老遗传控制程序中的重要环节，还可影响细胞寿命与端粒长度。虽然端粒酶可以合成端粒，但*p16* 基因并没有影响端粒酶，而是通过影响一种 Rb 蛋白的活性而起作用。实验表明，抑制*p16* 基因表达，可减慢细胞衰老速度，延长寿命，减慢端粒长度缩短，反之可加快细胞衰老速度，缩短寿命，加快端粒长度缩短[11]。

1972 年，Harman 首次提出线粒体 DNA（mtDNA）与衰老密切相关这一假说，之后的研究者发现许多与衰老有关的退行性疾病的主要原因是 mtDNA 的变异，这些衰老病的原发性和继发性症状都被认为是氧自由基对 mtDNA 氧化损伤的结果，与细胞的氧化还原调控机制的失衡相关[12]。1989 年，Linnane 等提出线粒体衰老假说，认为线粒体 DNA 受损导致的突变率上升，mtDNA 突变积累，线粒体氧化磷酸化能力降低，细胞产生 ATP 的量越来越少，这是发生衰老的基础[13]。人类脑、心肌、骨骼肌、皮肤、肝、生殖细胞中 mtDNA 片段缺失，可能缺失的碱基序列不同，但是 mtDNA 片段丢失比例随年龄而增加，存在与衰老的正相关性，可能导致人类多种老年退行性疾病。有研究证明，人骨骼肌 mtDNA 5.0kb 片段丢失率 21 岁时仅为 1/10 万，78 岁时可上升到 1/5000。而有几种老年人常见病（如Ⅱ型糖尿病、帕金森病和阿尔茨海默病）与线粒体功能减弱有关。目前许多国家的实验室已把 mtDNA 的损伤和抗损伤作为抗衰老药物的重要指标。

除上述具有代表性的学说之外，还有微量元素学说、交联学说（cross linkage theory）、生物膜损伤学说（theory of biological membrane damage）、遗传程序学说（genetic program theory）、染色体突变学说（chromosomal aberration theory）、差错学说（error theory）、免疫学说（immunological theory）、内分泌学说（Endocrine theory）等。这些学说的研究者从其所从事的不同学科角度出发，对衰老机理进行了较为深入的探索。

参 考 文 献

［1］ Jazwinski SM. Aging and longevity genes. Acta Biochimica Polonica，2000，47（2）：269-279

［2］ 杨浩杰，王治伦，薛森海．衰老的机制研究进展．中国地方病防治杂志，2008，23（1）：35-37

[3] Harman D. Aging：a theory based on free radical and radiation chemistry. Gerontol，1956，11（3）：298-300
[4] 王锋青，陈秉初．生物衰老机理研究进展．生物学教学，2004，29（2）：4-7
[5] 印大中，刘希彬．自由基伤害衰老理论的严重缺陷．中国老年学杂志，2003，3（2）：123-126
[6] Greider CW，Blackburn EH. The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleop rote in enzyme with two kinds of primer specificity. Cell，1987，51（6）：887-898
[7] 阿可冀，张国玺，吴青等．我国近五年老年医学研究进展．中华老年医学杂志，2005，24（5）：325
[8] Griffith JD，Comeau L，Rosenfield S，et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. Cell，1999，97（4）：503-514
[9] 叶克本·波拉提．衰老机理的研究现状及展望，地方病通报，2009，24（2）：75-77
[10] 何海蓉．褪黑激素的抗衰老研究进展．国外医学老年医学分册，2000，17（5）：36-38
[11] 北京大学学报编辑部．细胞衰老的主导基因研究获重要成果．北京大学学报（医学版），2002，34（4）：315
[12] Linnane AW，Ozawa T，Marzuki S. et al. Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to aging and degenerative diseases. Lancet，1989，333（8639）：642-645
[13] 吴小晶，吴丽娟，李晓东等．线粒体 DNA 定量分析与衰老关系初探．中国老年学杂志，1999，19（5）：315-317

撰稿人：赵永崎　范　明
军事医学科学院基础医学研究所
审稿人：高　福

亚健康的科学内涵

The Scientific Connotation of Subhealth

世界卫生组织（WHO）给健康下了新的定义，即健康是一种身体，精神和交往上的完美状态，而不仅仅是身体没有疾病。根据这一定义，可将人群分为 3 类，即健康者（第一状态）、患病者（第二状态）及亚健康状态（第三状态）[1]。还有一些学者将亚健康状态称为灰色状态、亚临床状态、第三状态、中间状态、中介状态、亚疾病状态、浅病状态、病前状态、游离状态、潜临床、次健康等。

亚健康状态是健康与疾病之间的临界状态，即非病非健康状态。机体无明显疾病，但可有各种各样的不适感觉。常见的表现为体力下降、容易疲劳、反应能力降低、思维涣散、心烦意乱、记忆力减退、精神状态欠佳、免疫功能低下。亚健康状态如果得到及时适当的处理，身体可向健康转化，如得不到及时适当的处理，则可能患病。亚健康者大多数以个人感受为主，处在亚健康状态的人体检无阳性体征，各试验室检查多为阴性，在诊断上有一定难度，用健康评估法对亚健康状态进行研究，缺乏定量标准[2]。

国内外对亚健康的诊断有以下几种方式：

（1）症状标准评估法：由于亚健康研究范围比较广泛，表现形式也比较多样，难以用一个既不违背理论和科学原则，又能够统一的且具有可操作性的诊断标准来概括。适当缩小研究范围，选择相对明确的研究点，如某种疾病预防阶段的亚健康状态或以亚健康其中的一种综合征为重点进行有针对性的研究，应是解决这类问题的有效方法之一。美国疾病预防控制中心（Centers for Disease Control and Prevention，CDC）对慢性疲劳综合征（CFS）的研究就是一个很好的例证。1994 年，美国 CDC 修订了对亚健康状态中普遍存在的 CFS 的诊断标准[3]。修订后的诊断标准为：

A—临床评定的、不能解释的、持续或反复发作的慢性疲劳，该疲劳是新得的或有明确的开始；不是持续用力的结果；经休息后不能明显缓解；导致工作、教育、社会或个人活动水平较前有明显的下降。

B—下述症状中同时出现 4 项或 4 项以上，且这些症状已经持续存在或反复发作 6 个月或更长的时间，但不应该早于疲劳：a. 短期记忆力或集中注意力的明显下降；b. 咽喉肿痛；c. 颈部或腋下淋巴结肿大、触痛；d. 肌肉痛；e. 没有红肿的多关节的疼痛；f. 一种类型新、程度重的头痛；g. 不能解乏的睡眠；h. 运动后的疲劳持续超过 24h。

诊断依据：A 项必备，B 项中的症状同时出现 4 项或 4 项以上。

日本厚生省在参考美国标准的基础上也制定了 CFS 标准[4]，其他国家如澳大利亚于 1990 年，英国于 1991 年制定了 CFS 标准[5]。

（2）MDI 健康评估法：很多学者用世界流行的 MDI 健康评估法对亚健康状态进行定量研究。MDI 是 WHO 用于对人类死亡危害最大的疾病所提示的各项指标进行测定，根据被测者的实际检测状况逐项打分（采取百分制，满分为 100 分），对应于 WHO 的健康定义，进行综合评价。其标准是：85 分以上为健康状态，70 分以下为疾病状态，70～85 分为亚健康状态。

（3）问卷评定量表调查法：在国内外应用较多，尤其是在国内更是一种较常见的应用方法。量表来源不一，主要有 Delphi 法、改良 Delphi 法等，以 7 项一级指标包括消化道功能、睡眠、性功能、疲劳、疼痛、情绪、生活快乐和满意度，设定其加权权重值分别为 13.1、15.7、12.0、15.4、13.5、15.8、14.5，以及一系列二级指标及其相关参数进行评价[6]。另外还有采用成熟量表如 SCL-90、SF-36 等通过评价躯体症状、心理症状、活力评价、社会适应能力、免疫力及医院就诊频次等评分，评价亚健康状态。

可以看出，这些评价指标主要侧重主观感受和自我体验，缺乏客观评价指标。有研究发现，血液流变学指标可靠性相对较高。临床发现持续应激反应可使交感神经兴奋，刺激儿茶酚胺增多，脾脏内α-受体激动导致红细胞排出增多，红细胞压积升高，血液黏度随着红细胞压积的升高而升高。强烈的应激反应，如过度的紧张、兴奋、抑郁、忧虑、愤怒等均可使儿茶酚胺产生过多，诱发血小板聚集，血黏度升高。有很多疾病在出现临床症状之前，往往已有一种或几种血液流变指标异常[7]，这标志着无症状的疾病病程已经开始，已由健康人发展为亚健康人，及早地采取改善血液流变性的措施，可逆转此过程，防止向疾病转化，使亚健康转化为健康。

此外，还有学者证实可以通过测定体内微量元素的含量变化揭示亚健康状态[8]。还有一些特异性诊断方法，如多功能超高倍显微技术（“一滴血”法)[9]、多媒体显微诊断仪（THMMDI）检测法、仪器检测评价法（如福贝斯远程健康检测系统、脑像检查、量子共振检测法等)[10]、耳穴诊断[11]等。中华中医药学会亚健康分会于 2006 年颁布了《亚健康中医临床指南》，确定了亚健康的范畴及临床表现，但总的来说，目前对亚健康的测量方法还缺乏统一的、公认的标准，尚未建立一个具有统一的评定标准（亚健康量表）、持续时间标准和疾病排除标准的完善的亚健康评估系统。

但近来医学界有人提出“慢性疲劳综合征”是一种疾病，并不属于亚健康的范畴。《亚健康中医临床指南》认为，亚健康虽然多表现有慢性疲劳，但不是特指满足一定特殊标准的慢性疲劳综合征，其范围是较为广泛的慢性疲劳综合征并已被正式纳入目前的疾病分类中，有特定的诊断标准及临床表现特征，满足目前慢性疲劳

综合征诊断标准者，不再被认为是亚健康状态，因此亚健康状态与慢性疲劳综合征的关系有待研究。

参 考 文 献

[1] 黄艳君，马秀云，苏阳等．亚健康与检验医学．沈阳医学院学报，2009，11（2）：119，122

[2] 王俊，郭雯，王景芳．亚健康与21世纪医学．中国临床保健杂志，2007，10（1）：106-108

[3] Holmas GP，Kaplan JE，Gantz NM，et al. Chronic fatigue syndrome：a working case definition. Ann Intern Med，1988，108：387-389

[4] Kitani T，Kuratsune H，Yamaguchi K. Diagnotic criteric for chronic fatigue syndrome by the CFS group in Japan. Nippon Rinsho，1992，50（11）：2600-2605

[5] Lloyd AR，Hiekie I，Boughton CR，et al. Prevalence of chronic fatigue syndrome in an Australian population. Med J Aust，1990，153（5）：522-528

[6] 陈青山，王声湧，荆春霞等．应用 Delphi 法评价亚健康的诊断标准．中国公共卫生，2003，19（12）：1467-1468

[7] 王静，陈耀平，高中芳等．247 例亚健康状态干部血液流变学及相关指标的检查结果．宁夏医学杂志，2003，25（12）：751-753

[8] 钟玉昆．亚健康问题与防治研究成果．广东微量元素科学，2002，9（5）：60-64

[9] 梅桂杰，田有粮．超高倍显微诊断仪对 773 例健康体检评估分析．中国疗养医学，2005，14（1）：3-4

[10] 郑恒，崔丽萍．亚健康评价方法的研究进展．华南预防医学，2007，33（1）：32-35

[11] 李心沁，王琳．耳穴贴压疗法在亚健康诊治中的应用．中华中医药学，2007，25（5）：989-990

撰稿人： 赵永崎　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人： 高　福

人类是否存在外激素？

Does Human have Pheromone?

1959年，加利福尼亚大学的Karlson和Luscher发现了人体可以释放一种到环境中的物质，该物质被另一个同种个体接受后可引起特定的行为、发育、内分泌反应[1]。他们将这种物质命名为信息素，又叫费罗蒙（phereinhormon）。

其实费罗蒙的研究历史最早可以追溯到20世纪初法国科学家法布尔针对昆虫外激素的研究。1959年，德国化学家布南特分离纯化出第一个外激素分子——家蚕素（bombycol），是一种相对分子质量为240的15碳直链化合物。随后在金鱼中也发现了类似的外激素，而大鼠犁鼻器（vomeronasal ogan，VON）的发现致使人们开始思考人类的外激素，因为早就发现确实存在着长期共处同一空间女性月经周期趋同化和异性之间的生物学吸引的现象。

有科学家认为，人体的信息素主要是由位于腋窝的顶浆腺分泌的一种类固醇类雌激素，这种女性腋窝分泌的信息素被认为可以影响其他女性的月经周期[2]，这也被社会学家称为“宿舍效应”。通过基因遗传学的实验，在分子水平上可以检测到人鼻中隔内有一个独立于嗅觉系统的犁鼻器（VON）系统，该系统具有信息素受体的神经元，当有信息素刺激VON系统时，受体神经元的传入纤维通过附嗅球（AOB）再向上投向下丘脑，起到神经-体液调节内分泌的功能[3,4]。而美国科学家更是通过试验发现成年人体的VON可以对类固醇类激素产生效应，包括黄体的搏动、促滤泡激素的释放、脑电波脉冲增强等生物学效果[5]。另外，信息素的调节之所以会产生趋同的效果，有科学家认为是因为腋窝分泌的物质在不同时期有不同的作用，若在月经的卵泡期则会缩短月经周期平均1.7±0.9d，而在排卵期又延长月经周期平均（1.4±0.5）d[6]。在整个月经周期中延长和缩短的物质相互作用抵消，使得月经趋向某一个固定时间。

但是也有科学家发现了相反的证据。他们认为对于人体而言，VON早在胚胎时期已经退化，并且他们通过解剖个体的VON器官进行统计，结果发现个体VON的拥有率水平偏低，有些实验人员则通过免疫组化反应和分子遗传学试验对VON的存在提出质疑。不支持人类具有功能性犁鼻器的证据几乎和支持犁鼻器的证据一样多[7]，主要包括：

1）解剖学证据：不同研究者通过对成人犁鼻孔观察统计，得出的结论存在较大差异。Knecht等通过内窥镜对173例鼻腔进行观察，只有在2/3的人鼻腔中观察到假想的犁鼻器[8]。Trotier通过对564例成人犁鼻器进行研究发现，只有8％

双侧具有犁鼻孔，22％单侧具有，而70％没有犁鼻孔[9]。Smith从1842例成人鼻子中寻找成人犁鼻孔的存在[10]，发现13％的人在鼻腔两侧具有犁鼻器的开口，而26％只在一侧鼻腔发现开口，73％的成人至少在一次观察中发现其鼻腔有犁鼻孔，但很多个体在不同的观察中得出的结论却不同，有时能找到，而另一些时候却找不到。以上不同结果的原因可能是因为方法和生物因素引起的偏差[8]，但总地来看，犁鼻孔的有无没有年龄和性别差异，所以不适合作为人类功能性犁鼻器的证据。另一方面，其他哺乳类犁鼻感受器发出轴突和副嗅球相联系，而在人类，副嗅球只出现在胎儿期，出生后副嗅球退化[11]。

2）免疫组化证据：嗅觉标记蛋白是发现于嗅黏膜成熟神经元和其他哺乳类犁鼻器中的一种蛋白质[9]，用嗅觉标记蛋白抗体对人类犁鼻器进行标记呈阴性反应。神经元标记物（钙联蛋白，CaBP）在其他哺乳类中和犁鼻器双极感觉神经元相结合，人类犁鼻器通过CaBP染色也呈阳性反应，但是在人类犁鼻器内没有发现双极细胞发出的轴突以及从犁鼻上皮基底膜穿出的痕迹。而且Johnson指出在神经内分泌细胞中也发现CaBP阳性反应[12]，所以在人类犁鼻器内通过CaBP染色的是神经内分泌细胞还是双极感觉神经细胞还有待进一步研究。

3）分子遗传学证据：研究发现，人类的嗅觉感受性呈衰退状态，72％的嗅觉受体基因是假基因，大鼠可能编码犁鼻器受体的两组基因*VR1*和*VR2*已经被克隆。这两组基因在犁鼻感觉上皮中表达两组独特的受体蛋白质。在人类*VR1*基因组，在编码区有阻止密码子，表明其为非表达性假基因[13]。在犁鼻器中表达的第二组受体基因*VR2*明显和代谢型谷氨酸及钙离子敏感受体相联系[14]，而这个功能基因在人类中的表达也值得怀疑。如果发现人类具有假想的能够表达功能蛋白质的犁鼻器受体基因，那么人类鼻腔中某个部位肯定具有犁鼻器受体。但是如果人类所有犁鼻器受体基因的同源基因都包含阻止密码子插入，人类肯定缺乏功能性犁鼻器。

成人具有鼻中隔两侧小孔，符合犁鼻器开口的描述。但这个假想的犁鼻器在功能上是否与其他种类的犁鼻器相同，结论仍不确定，而这个结构是否是犁鼻器的残余也是一个问题。到目前为止，还没有确定的成人犁鼻感觉细胞，对犁鼻感觉上皮和中枢神经系统间的神经联系也没有确定性描述。而且人类化学通讯虽然存在，但不一定需要功能性的犁鼻器，因为许多对信息素呈现反应的物种却没有用犁鼻器。所以虽然许多研究证明人类犁鼻孔具有类似于其他哺乳类犁鼻器的化学感受器功能，但是却有越来越多的人反对人类具有功能性犁鼻器。

此外，对于同宿舍女性月经周期趋同现象的原因，国内外仍存在许多争论与疑问，至少有科学家认为这是心理因素和社会学因素，其中的作用机理尚需进一步探讨。

参考文献

［1］ 刘丽婷，邹宇华．同宿舍女性月经周期趋向一致的原因探讨，中国社会医学杂志，2009，

26（1）：31-33

［2］ Shinohara K，Morofushi M，Funabashi T. Axillary pheromones modulate pulsatile LH secretion in humans. Neuroreport，2001，12（5）：893-895

［3］ Kouros-Mehr H，Pintchovski S，Melnyk J，et al. Identification of non-functional human VON receptor gene sprovides evidence for vestigiality of the human VON. Chem Senses，2001，26（9）：1167-1174

［4］ Brennan PA，Keverne EB. Something in the Air? New insights into mammalian pheromones. Curr Biol，2004，14（2）：81-89

［5］ David L，Luis B，Bloch M，et al. The functionality of the human vomeronasalogan（VON）：vidence for steroid receptors. J Steroid Biochem Mol Biol，1996，58（3）：259-265

［6］ Stern K，McClintock M. Regulation of ovulation by human pheromones. Nature，1999，401（6750）：232-233

［7］ 郃发道，张育辉，孙儒泳．关于人类是否具有功能性犁鼻器的探讨．解剖学杂志，2002，25（2）：195-198

［8］ Knecht M，Kuhnau D，Huttenbrink KB，et al．Frequency and localization of the putative vomeronasal organ in humans in relation to age and gender. Laryngoscope，2001，111（3）：448-452

［9］ Trotier D，Eloitl C，Wassef M，et al. The Vomeronasal Cavity in Adult Humans. Chem. Senses，2000，25（4）：369-380

［10］ Smith TD，Siegel MI，Burrows AM，et al. The searching for the human vomeronasal organ：preliminary findings on location，structure and size in adult humans. Microsc Res Tech，1998，41（6）：483-491

［11］ Meisami E，Bathnagar KP. Structure and diversity in mammalian accessory olfactory bulb. Micros Res Tech，1998，43（6）：476-499

［12］ Johnson EW. CaBPs and other immunohistochemical markers of the human vomeronasal system：a comparison with other mammals. Microscopy Res Tech，1998，41（6）：530-541

［13］ Dulac C，Axel R. A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. Cell，1995，83（2）：195-206

［14］ Herrada G，Dulac C. A novel family of putative pheromone receptors in mammals with a topographically organized and sexually dimorphic distribution. Cell，1997，90（4）：763-773

撰稿人：赵永崎　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人：高　福

睡眠的意义与机制是什么

The Meaning and Mechanism of Sleeping

睡眠机制的研究是一门历史悠久的学科。在过去的几十年中，运用细胞电生理学来研究睡眠取得了可喜的成果。由于种种技术上的困难，近年来该领域的研究多集中于临床和医学范围，例如嗜睡症、抑郁症等。虽说睡眠的节律性较易理解，但到目前为止，关于睡眠的功能已有不少理论和假说，但人类对睡眠机制的认识尚处于起步阶段[1]。现代科学一般认为，在睡眠过程中，大脑和神经系统得到了修复整理、营养补充及能量储存，因此有人用 3 个“R”（Repairing，Restoration 和 Regeneration）来描述这个过程。19 世纪 20 年代后半期曾有人进行过人的睡眠剥夺实验，有 3 个青年人坚持睡眠剥夺了 90h，结果他们的感觉、反应的敏捷度、运动速度、记忆力以及计算能力都变得迟钝，其中一个人在睡眠剥夺第二个晚上出现了幻视、体温下降等异常状况。还有些科学家发现与发育密切相关的“生长激素”在夜间比白天分泌得多。最近又进一步确认了生长激素分泌旺盛的时期是在慢波睡眠（slow wave sleep，SWS）阶段[2]。然而，睡眠过程到底如何驱除疲劳、恢复脑力和体力，从细胞水平和分子水平上，现代科学对于神经和大脑的睡眠生化过程了解得还很肤浅。

在诸多假说中，一些假说认为睡眠在某种程度上与学习和记忆有关。在睡眠的纺锤波和慢波阶段伴随着突发性放电，该现象虽然到目前为止还未得到直接证明。但因大量钙离子流入神经元而造成电生理改变的可能性还是有的。Berridge 等认为内质网是神经元内的神经元。内质网的钙离子释放是一种信号机制，能有效地调节神经的兴奋性和基因表达对环境的可塑性、适应性，因此很容易想到在 SWS 期间，钙离子流入能诱导基因表达，从而产生长期的适应性变化。虽然在睡眠中可能存在其他调控机制以保持体内平衡，但有证据表明，正常的与睡醒平衡（睡醒可塑性）有关的基因表达是在觉醒期间被诱导的，并非睡眠期间。近年来，一种早期表达基因 *Arc*（activity regulated cytoskeletal）受到了广泛的关注，因为 *Arc* 选择性地出现于被激活的突触中，而且这种现象仅出现在觉醒期间而非睡眠期间。事实上，不论睡眠是否对于可塑性重要，运用觉醒和睡眠之间的比较可了解可塑性变化与细胞和分子水平上的调控相关。对于在睡眠期间各种与可塑性相关的标志物水平低的原因，目前认为是在睡眠期间特定的神经调节系统处于休止状态，如去甲肾上腺素系统（而不是血清素激活系统）[3]。目前一些实验室正在进行相关的研究，最近 Siegel 用一种原始的单孔类动物针鼹所作实验的结果还显示了一种复合的睡眠前

兆现象[4]。

国内学者刘同想等的研究表明，长期睡眠较差的老年人老年环、老年斑、脱牙数得分、冠心病、高血压病、脑血管病、慢性胃炎、糖尿病患病率及血清过氧化脂质明显偏高，红细胞超氧化物歧化酶活性明显偏低，提示睡眠质量差对老人健康有害并可加速衰老[5]。最近美国芝加哥大学的研究人员在他们的研究中发现，人如果一段时间睡眠不足，身体会出现衰老症状，严重者会患上心脏病、糖尿病等疾病，提示衰老过程与睡眠有密切的相关性。印大中等提出睡眠过程的神经元膜的去毒化假说，认为觉醒过程中种种生化副反应（如氧化和糖基化）造成的垃圾堆积造成了神经系统的“疲劳”，睡眠过程的单胺复原（去羰基毒化）可能是重要的睡眠生化机理或者就是日复一日的“返老还童”过程[6]。

总而言之，人为什么要睡觉？从分子水平上来讲，现代科学对于这样一个似乎简单的问题不是“不甚清楚”，而是“甚不清楚”。目前，与睡眠科学相关的大脑神经生物学研究已成为世界各国都很重视的生命科学的前沿领域，睡眠的奥秘正随着现代科学的不断发展逐步解开。

参 考 文 献

[1] 何志恒，印大中．睡眠研究的科学前沿．生命科学研究，2002，6（4s）：184-187

[2] Tibetan Y. What is Sleep-Exploring the World of Sleep and Dream. Beijing：Science Press，1998

[3] Cirelli C，Pompeiano M，Tononi G. Neuronal gene expression in the waking state：A role for the locus coeruleus. Science，1996，274：1211-1215

[4] Siegiel JM，Manger P，Nienhuis R，et al．Monotremes and the evolution of REM sleep. Philos Trans of the Royal Soc，1998，353：1147-1157

[5] Liu TX，Kong SP. Studies of the relationship of sleep quality，diseases and aging. Chi Behav Med Sci，1994，3（3）：134-135

[6] Yin DZ. Is carbonyl detoxification an important anti-aging process during sleep? Med Hypoth，2000，54（4）：519-522

撰稿人：赵永崎　范　明

军事医学科学院基础医学研究所

审稿人：高　福

人工舱室环境耐受能力的生理学基础和生物学指标

Physiological Base and Biological Index of Tolerance to Artifical Cargo

随着科学技术的发展，人类逐渐将探索的触角延伸到了更加广阔的空间，其中包括一些特殊的环境，如太空、深海、高原、极地等。为了保障人类在这些极端环境中的生存，密闭的人工舱室的使用起到了至关重要的作用。小到单人使用的航天服、潜水服，大到数人使用的太空舱、潜艇、极地考察站，甚至于能够容纳一定群体的封闭生态保障系统，都可纳入人工舱室的范畴。由于空间狭小、缺乏气体交换等原因致使人工密闭环境相对恶劣，影响乘员的身心健康和工作效率，甚至危及生命[1]。如何根据人体在人工舱室的心理学和生理学耐受能力研究，建立科学的评价体系和指标，并在此基础上选拔具有优势的乘员，使其能够更加耐受密闭的特殊极端环境，从而更好地完成任务，是人工舱室相关活动的研究重点之一。

目前对长期在人工舱室中生活的人类个体耐受能力的挑战主要在精神心理层面，已有多种心理测评方法用以评估候选乘员对密闭环境的耐受能力[2]。尽管现有的心理测评起到了一定的作用，但是相关机制并不十分清楚，而且目前采用的选拔指标主观性很强，仍然缺乏客观的基于生理学基础的生物学指标。

人工舱室环境牵涉因素众多且相互关联，情况十分复杂，很难分清究竟哪种或者说那些因素对人体产生了不良影响。另一方面，人体本身作为复杂的有机生物体，存在多种调节机制，针对某一种或者某一些环境因素的反应也不尽相同，因此要确定人体对人工舱室环境耐受能力的生理学基础和生物学指标着实不易。尽管困难重重，各个领域的科学家仍然在努力攻关，力求解决这一难题。在研究过程中存在几个值得关注的问题：

1）全面深入了解人工舱室的环境特征：对人工舱室环境特性的了解是制定乘员选拔生物学指标的基础。对于在密闭环境中长期执行任务的乘员来说，许多方面的因素都可能影响其健康，如物理因素（温度，湿度、光线，噪声等）、化学因素（环境气体等）、生物因素（微生物等）。必须对各类人工舱室的各种环境参数有全面、深入的了解，才有可能针对性地制定相关生理选拔标准。人工舱室环境对人体健康的影响往往是综合多种因素而产生的，所以根据已经掌握的数据，模拟舱室环境，在此基础之上研究密闭环境对人体健康的影响更接近真实[3]，利用这种模拟环境选拔出的乘员应该能够更加出色地完成任务，同时利用该平台对乘员进行训练，

使其更加适应人工舱室环境，也有助于任务的完成。此外还需注意，人工舱室环境的特征因素并非固定不变，而是在一定时间之内有可能发生剧烈变化，比如潜艇的下沉和上浮，载人飞船的升空和返回，极地考察站也有可能面临剧烈的气候变化[4]。所以选拔乘员的时候也要把对环境因素变化的耐受性考虑在内，以免在人工环境剧烈变化的时候发生意外。我们还应该积极发展改善舱室环境的新技术[5]，从而放松对封闭环境人员的生理条件限制。

2）深入人工舱室特征环境对人体生理功能影响的机制理论研究：深入研究单一或者综合因素对人体生理功能影响的机制是生理学、病理学的重要课题。相关研究所得到的基础理论将有助于我们预测不同个体对环境的反应性，同时指导相关任务乘员的选拔[6]。在人-机-环境系统中，舱室环境与人相互关联、相互影响，一方面舱室环境影响人的身体健康和工作效率，甚至危及人的生命安全；另一方面人与舱室环境之间存在物质、能量和信息的交换，产生相互作用[7]。故选拔乘员时，还应考虑人对密闭环境的影响。

3）综合制定切实可行的生理学选拔标准：在全面了解人工舱室的环境特征及其对人体的生理影响机制的基础上，综合各方面因素，制定乘员选拔的生物学标准，同时不断地在实践中修正、完善。不同的人工舱室所具有的环境特征有所不同，按照不同的环境因素特征制定不同的乘员选拔指标当然无可厚非。但另一方面，同为封闭环境，各种人工舱室之间又具有一定的相似性，不同的选拔指标之间在一定程度上又可以相互借鉴，从而达到事半功倍的效果。生理因素并不是决定人体健康的唯一指标，心理状态同样直接决定着健康的程度。此外生理和心理因素相互作用，相互影响，共同决定着乘员的状态[8]。所以在考察候选乘员时，应对其生理和心理进行综合测评。

有关人工舱室环境耐受能力的生理学指标的研究还有许多工作有待开展。许多国家也对这方面的研究相当关注，面向长期载人火星探测的“MARS-500”项目就是目前的重要实验之一。该实验由俄、中、法、德等多个国家参与，分 3 个阶段实施，其中计划在 2010 年下半年实施的第三阶段将组织 6 名不同国籍的志愿者在狭小密闭的环境中生活 520 天，志愿者只能通过电子邮件与外界联系，旨在模拟往返火星任务的过程（250 天飞往火星，停留 30 天，240 天返回地球）。期间将着重对每位志愿者的生理心理情况进行考察，相信此类研究将极大地推进人类对密闭环境耐受能力的研究，有助于制定切实有效的人工舱室乘员的生物学选拔标准。

参 考 文 献

[1] Reilly T，Waterhouse J，Edwards B. Some chronobiological and physiological problems associated with long-distance journeys. Travel Medicine and Infectious Disease，2009，7（2）：88-101

[2] Johnson NL. The new jettison policy for the international space station. Advances in Space Research，2006，38（9）：2077-2083
[3] 唐志文等．模拟潜艇舱室环境理化因素对人体功能的影响．中华航海医学杂志，1997，4（3）：142-145
[4] Miyamoto A，et al，Medical baseline data collection on bone and muscle change with space flight. Bone，1998，22（5，Supplement 1）：79S-82S
[5] Williams DR. Bioastronautics：Optimizing human performance through research and medical innovations. Nutrition，2002，18（10）：794-796
[6] Lane HW，RJ Gretebeck，SM Smith. Nutrition，endocrinology，and body composition during space flight. Nutrition Research，1998，18（11）：1923-1934
[7] Persson O，et al. Air contaminants in a submarine equipped with air independent propulsion. Journal of Environmental Monitoring，2006，8（11）：1111-1121
[8] 王映红等．美军潜艇艇员心理选拔量表的应用．海军医学杂志，2006，27（1）：93-95

撰稿人：[1,2]李京宝　[1,2]商　澎
1 国防科学技术工业委员会空间生物实验模拟技术重点实验室
2 西北工业大学
审稿人：范　明

人类对极端自然环境的耐受能力的机制

Mechanism of Human Tolerance to Extreme Natural Environments

极端自然环境是生物对异常生存环境耐受的极限环境，包括高-低温环境、高-低压环境、高辐射环境、低氧环境、异常磁场环境和异常重力环境等[1,2]。不同生物对极端自然环境的耐受能力不同[3]。其中，人类是自然环境与机体交互作用造成的生物进化的最高产物。不同人类个体对极端自然环境的耐受能力也有极大的差别。这种差别到底有多大，其深层的细胞分子机制是什么？对这个问题的回答有助于拓宽人类现有生存空间，提高人类在异常环境中的生存能力。面对这些极端的自然环境，人体会做出相应的反应，这里以高原缺氧环境为例，介绍人类对极端自然环境的耐受能力机制的研究方法和思路。

在高海拔地区，会因海拔高而带来缺氧、低温和大风。在青藏高原上，氧气含量随着海拔高度增加迅速减少。在海拔 3000m 高度，氧气含量为海平面的 70％，在 6000m 高度，则仅为海平面的 53％，而在珠穆朗玛峰峰顶（8844.43m），氧气含量仅为海平面的 31％[4]。人们正常生活在海平面的标准大气压是 760mmHg（1mmHg＝$1.333\ 22\times10^2$Pa），随着地势的增高，空气越稀薄，气压就越低，人体所需要的氧气压力也随之降低，肺泡内的气体、动脉血液和组织内氧气的分压也相应降低。但是，人体所需的氧气含量仍然不变，为维持人体血液中含氧量，人体要做出相应的反应来适应这种环境。最重要的生理反应包括以下三个方面：①心输出量增加，这种增加是暂时的，当返回到海平面几周后，就会慢慢回到正常水平，而长期高原低氧适应对心脏具有明显保护作用[5]；②血氧饱和度高；③血红蛋白浓度增加[6]。如果没有相应的适应体系，会导致肺泡内氧分压降低，使氧气向组织的运输受到影响，最终导致细胞缺氧甚至器官功能紊乱。常见的高原反应就是来不及适应高海拔环境的结果：刚进入高原，会因为高度突然增高，人体会自动增加红血球的含量，但是这个增加过程需要几天的时间，因此刚开始会出现体内氧气供应不足的现象，高度越高、过渡时间越短，产生的反应就越剧烈。人们从平原进入高原地区，一般人需要 2～3 个月的时间慢慢适应当地的低氧环境，使人们能在这种环境下生存，并能进行一般正常或接近正常的脑力及体力活动。如果人不能适应高原低氧环境则要发生高原病，如高原性肺水肿、高原性心脏病、高原性高血压、高原性低血压等 [7]。

有人研究了长期居住在高海拔地区的人群，研究表明：生活在安第斯山脉高处的人比海平面地区的人具有更多的红细胞和运输氧气的血红蛋白；生活在喜马拉雅

山脉顶峰附近的西藏人，其血红蛋白含量与海平面地区的人没有多大差异。后来又调查了居住在海拔 3530m 的埃塞俄比亚人，调查的人中年龄从 14 岁到 86 岁，结果发现埃塞俄比亚人的血红蛋白含量与海平面地区居民很接近，和西藏人类似。然而与西藏人不同的是，埃塞俄比亚人的血液含氧量高得多，与安第斯人和海平面地区居民相似[8]，因此关于高原居民为何能适应高原低氧环境，其中的耐受机制随着地理位置的不同也不尽相同。

为研究高原居民适应高原低氧环境的机理，许多国内外学者选用一种具有极强的低温、低氧耐受能力高原鼠兔作动物模型，从整体水平及分子水平对高原鼠兔的低氧适应机制进行了大量研究[9]。高原鼠兔对低氧环境的适应表现在氧解离曲线左移、P50 值变小、红细胞氧解离能力增强，增加了组织对氧的利用。高原鼠兔对低氧的适应在血液学上以低红细胞压积（Hct）、低血红蛋白（Hb）为特征，不因海拔高度的变化而出现明显改变。不同海拔高度的高原鼠兔 Hct 和 Hb 均明显低。高原鼠兔在长期低氧环境下肺血管内皮细胞及平滑肌无低氧性损伤，仍能维持 NO 正常释放，对维持肺血管的低张力起到了重要作用，这可能是一种遗传性适应。Zhao 等[10]克隆了高原鼠兔的低氧诱导因子 1（HIF-1）。该基因的高表达可能通过血管扩张和新生血管生成从而增加局部组织供氧，增强了它对低氧的适应能力。HIF-1 还可调节 EPO 的表达，而 EPO 可通过促进红细胞增殖以增加全身氧的输送，这也是它适应高原缺氧的机制之一。低氧诱导因子及其调控基因与缺氧预处理的保护作用密切相关，缺氧预处理可触发机体的内源性保护机制，使机体对严重缺氧或其他致死性应激产生防御和抵抗[11]。高原鼠兔骨骼肌中肌红蛋白（MGB）表达水平较高，MGB 为肌肉组织储存和转运氧，这也是鼠兔对低氧适应的机制之一[12]。Yang 等[13]发现高海拔地区高原鼠兔瘦素（leptin）基因的表达明显高于低海拔地区。瘦素的高表达可促使机体产热增加，以利于适应寒冷环境。高寒、低氧环境下瘦素的高表达可能是高原鼠兔对低氧适应的生态学机制之一。

人类面对的极端自然环境有很多种，对于不同的极端自然环境，人类耐受的机制也不相同，要弄清人类对极端自然环境的耐受机制，要根据研究对象及目的制定相应的研究方案。一方面，可以直接在真实极端环境中进行研究，即观察这个环境中的细胞分子、组织、器官及整体的变化，利用系统生物学手段对数据进行分析整理，从而获得人类耐受极端环境的规律；另一方面，可以通过间接方法选择模式生物进行较为深入的研究，将模式生物在极端环境中生存的规律借鉴到人类，从而探索人类对极端自然环境耐受能力的机制，最终服务于人类。

参 考 文 献

［1］ 司马义・萨依木．极端环境中的低温微生物及其应用．生物学通报，2002，37（8）：15-17

［2］ Danovaro R，Dell’Anno A，Corinaldesi C，et al. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. Nature，2008，454（7208）：1084-1087

［3］ de Forges BR，Koslow JA，Poore GC. Diversity and endemism of the benthic seamount fauna in the southwest Pacific. Nature，2000，405（6789）：944-947

［4］ 高登义．人类在极端环境气象中的适应问题．气候与环境研究，1999，4（1）：5-8

［5］ 张翼，杨黄恬，周兆年．间歇性低氧适应的心脏保护．生理学报，2007，59（5）：601-613

［6］ Martin D. Windsor J. From mountain to beside：understanding the clinical relevance of human acclimatization to high-altitude hypoxia. Postgrad Med J，2008，84（998）：622-627

［7］ 杜萍．高原反应与预防．甘肃科技，2009，25（7）：141-142

［8］ Beall CM，Decker M J，Brittenham GM，et al. An Ethiopian pattern of human adaptation to high-altitude hypoxia. Proc Natl Acad Sci USA，2002，99（26），17215-17218

［9］ 马兰，格日力．高原鼠兔低氧适应分子机制的研究进展．生理科学进展，2007，38（2）：143-146

［10］ Zhao TB，Ning HX，Zhu SS，et al. Clong of hypoxia-inducible factor 1a cDNA from a high hypoxia tolerant mammal-plateau pika（Ochotona curzoniae）. Biochem Biophysl Res Commun，2004，316：565-572

［11］ 孙胜，高钰琪，高文详等．缺氧预处理保护机制的研究进展．国际病理科学与临床杂志，2005，25（4）：304-306

［12］ Burmester T，Ebner B，Weich B，et al. Cytoglobin A novel globin type ubiquitously expressed in vertebrate tissue. Mol Biol Evol，2002，19：416-421

［13］ Yang J，Zhao XQ，Guo SC，et al. Leptin cDNA cloning and its mRNA expression in plateau pikas（Ochotona curzoniae）from different altitudes on Qinghai-Tibet Plateau. Biochem Biophysl Res Commun，2006，345：1405-1413

撰稿人：[1,2]田宗成 [1,2]张 蓉 [1,2]商 澎

1 国防科学技术工业委员会空间生物实验模拟技术重点实验室

2 西北工业大学

审稿人：范 明

神经生物学、生理心理学、认知与行为学

脑发育中神经元如何迁移到达特定部位

How Do Neurons Migrate to Designated Locations in the Developing Brain

人脑是自然界中最为复杂的器官，它使人类能够感知精彩纷呈的外部世界，并拥有严谨深邃的理性和丰富细腻的情感。要认识人脑如何行使功能，需要了解这个精妙的“生物机器”究竟是如何发生和发展的。

目前知道，脑由胚胎早期少量的神经干细胞发育产生数千亿的形态和功能各异的神经细胞，并相互连接形成复杂的神经回路和不同的脑功能分区。从细胞水平来看，复杂的大脑结构及神经回路的发育可以归纳为如下几个关键步骤：①从早期胚胎组织中诱导产生神经组织，并进一步按照在胚胎的前后轴和背腹轴的位置特化为不同的区域；②各个区域的神经干细胞增殖分化产生各种类型的神经细胞；③新生的神经细胞由生发区（germinal zone）运动迁移到特定脑区并规则地排列组合；④神经细胞的轴树突定向延伸并寻找到特定的靶细胞建立突触联系；⑤神经回路发生使用依赖性的突触增强、减弱、修剪以及新突触产生等修饰；⑥此外成年人体脑内局部区域会产生新的神经元并整合到现存的神经网络中。这些发育步骤中任何环节异常都可能导致脑的结构紊乱和功能异常。这里重点讨论神经元迁移和轴树突生长导向这两个与大脑结构形成密切相关的发育事件。

神经元的发生一般在特定的区域，如脑室壁。大部分脊椎动物的神经管最初只有一层神经前体细胞（neural progenitor）。随着神经元发生过程的进展，由这一层神经前体细胞产生了大量的神经细胞并且产生不同的层次排布[1]。最后不同类型和数目的细胞要分布在不同区域，这势必要求神经元必须经过有序迁移和重组的过程以便形成特定的神经回路。早在一百多年以前，人们就通过对胚胎脑组织的组织学观察，提出了脑的形态发育过程中会发生活跃的新生神经元迁移。直到 20 世纪 50、60 年代，Sidman 通过同位素标记的方法证明了神经元的排布并非被动地堆积，从而确定了神经元需要迁移这个事实[2]。80 年代以来，对大量组织培养标本的显微实时摄影使人们直接观察到脑内不同部位的新生神经元均发生着活跃的迁移。

脑内神经元迁移有两种方式：一种称为放射状迁移（radial migration）；另一种称为切向迁移（tangential migration）[3]。放射状迁移是指新生神经元沿着贯穿神经管内壁和外壁呈放射状排布的胶质细胞的纤维由内而外进行迁移。60 年代，Pasko Rakic 通过电镜研究，观察到灵长类胚胎大脑皮层新生神经元缠绕放射状胶

质纤维运动过程中的形态，提供了神经元放射状迁移的有力证据[4]。利用逆转录病毒活体标记的方法，可以动态地观察到新生神经元沿着放射状胶质纤维迁移的全过程[5]。切向迁移指的是沿着神经管的正切方向、不依赖放射状胶质细胞的迁移方式。最为典型的切向迁移模型是侧脑室室下带（SVZ）区新生细胞沿着头端迁移通道（RMS），向前长距离迁移达到嗅球。切向迁移过程中，细胞通过相互黏附或依托先行的神经轴突进行迁移。无论是放射状迁移还是切向迁移模型，在细胞水平上，对细胞迁移过程的理解还有待深入。目前还不清楚神经细胞迁移过程中驱动力究竟如何产生，细胞的各个部分如何协同运动，粘连分子如何与迁移过程相配合，以及迁移过程中细胞极性如何建立和保持？另一个重要的问题是神经元迁移的时间和路线是如何受细胞外环境和内环境指导的？即细胞如何在特定的时间离开其出生地，如何沿着特定的路线迁移，并如何在到达特定位置后停止迁移？

停止迁移后的神经元的轴树突是如何在纷纷扰扰的神经元丛林中找到自己的靶神经元呢？现代神经生物学之父 Ramony Cajal 在一百多年前就观察到生长中的轴突其前端有一个结构多变的结构，称之为生长锥（growth cone）。Cajal 大胆推测，神经生长锥能够探测外界环境并引导神经轴突投向正确的靶组织[6]。在 1910 年，Ross Harrison 通过神经管组织培养，观察到生长锥能够在玻璃片上移动，似乎通过伸出的指状突起和片状突起探索着前进的道路[7]。之后又有许多的实验观察证明生长锥对外界的障碍物、损伤、导向因子都具有独立的感受。一个著名的实验是，当把发育中的视网膜投射到顶盖的轴突剪断，短时间内生长锥可以继续延伸，但是剩余的结构就不能移动了[8]。目前生长锥被认为具有感受、运动、整合信息、适应外界信息的功能，所以目前有关轴突的生长导向问题的研究都集中于生长锥方面。胚胎发育过程中，不同的组织部位表达不同的细胞外导向因子，包括分泌型的吸引和排斥性因子，以及接触依赖的促生长和抑生长因子。而神经轴突生长锥表面表达特定的受体，感受胞外的导向因子信号，引导神经元选择特定的生长路线。至今已有大量导向因子被发现，它们的受体和信号转导机制正在被逐步揭示。各条神经回路发育过程所涉及的多种导向因子和受体的协同作用有待一一阐明。更为奥秘的问题是，机体是如何决定在特定的发育阶段和特定的脑区表达出特定的导向因子，并同时在不同神经细胞中表达特定组合的导向因子受体，从而确保各群神经细胞的轴突有序生长并寻找到特定的靶组织？这一问题的本质是，发育过程中神经细胞是如何受周边组织环境的影响有序地开启和关闭各个基因的表达，从而使基因组中所隐藏的机体发育蓝图逐渐展现出来。

对神经元迁移及其导向机制的研究，将帮助人们理解复杂的脑结构产生的奥秘，并为诊断和治疗多种与此相关的发育性神经系统疾病提供理论基础。

参 考 文 献

[1] Dan H S，William A H. Development of the Nervous System. 北京：科学出版社，2007

[2] Angevine J B，Sidman R L. Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. Nature，1961，192：766-768

[3] Parnavelas J G. The origin and migration of cortical neurones：new vistas. Trends Neurosci.，2000，23：126-131

[4] Rakic P. Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex. a Golgi and electronmicroscopic study in Macacus Rhesus. J Comp Neurol，1971，141：283-312

[5] Nadarajah B，Alifragis P，Wong R O，et al. Neuronal migration in the developing cerebral cortex：observations based on real-time imaging. Cereb Cortex，2003，13，607-611

[6] Cajal S R. A quelle epoque apparaissent les expansions des cellule nerveuses de la moelle epinere du poulet. Anat. Anzerger，1890，5：609-613

[7] Harrison R. The outgrowth of the nveve fiber as s mode of protoplasmic movement. J Exp Zoo.，1910，9：787-846

[8] Harris W A，Holt C E，Bonhoeffer F. Retinal axons with and without their somata，growing to and arborizing in the tectum of *Xenopus* embryos：a time-lapse video study of single fibres *in vivo*. Development，1987，101：123-133

撰稿人： 赵文龙 袁小兵

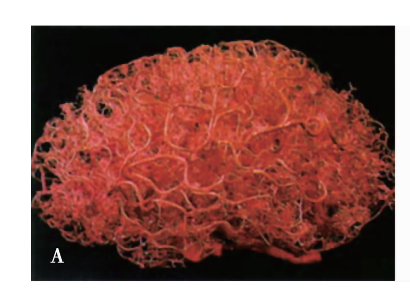
中国科学院神经科学研究所

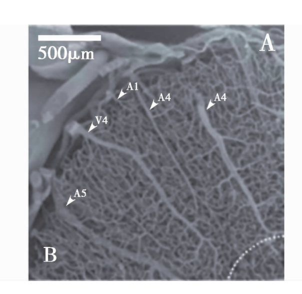
审稿人： 何 成 郑 平

大脑血管网络是如何形成的

How Does the Brain Vasculature Network Form

血管是构成大脑的主要成分之一，约占脑体积的 15％～25％[1]。在成人大脑中，血管（包括毛细血管）的总长度可达 650km，表面积约 $20m^2$。毛细血管之间的平均距离只有 40μm 左右，使得每一个脑细胞都接受到毛细血管网的覆盖[1]。脑血管系统是一个非常复杂而精细的三维网络（图 1）。尽管大脑质量只占身体的 2％，但通过这个血管网络大脑却占据了 20％的总血流量。对大脑的研究是当前最活跃的前沿基础研究之一。但是脑科学主要偏重于神经元和胶质细胞的研究，对脑血管的研究长期被忽视。目前，我们对脑血管网络的形成机制及其网络规律还一无所知。





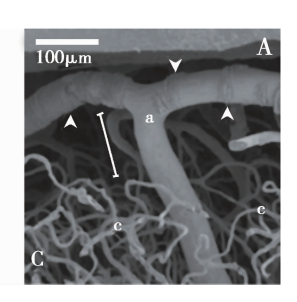


图 1　脑血管网络图

A. 正常成年人全脑血管图；B. 猕猴前上颚叶脑回皮层血管扫描电镜图，图中 A1、A4、A5 表示皮层不同深度处的动脉，V4 表示静脉；C. 猕猴前上颚叶脑回皮层血管扫描电镜图，图中 A 表示动脉。A 摘取于文献［1］，B、C 摘取于文献［2］

从神经系统功能的研究中，我们了解到脑血管对大脑的发育、功能和疾病均具有重要的调节作用[1,3,4]。在生理功能上，脑血管通过血液流动源源不断地将氧气和营养成分输送给大脑，并带走代谢废物。在神经系统发育过程中，血管可以作为“脚手架”牵引神经元的迁移。在脑疾病方面，在阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD）和帕金森病（Parkinson's disease，PD）动物模型上发现脑血管的病变先于神经元功能和形态的异常。因而，研究脑血管网络的发育机制，不仅可以揭开脑血管三维网络机构形成之谜，同时也有助于我们对神经系统功能、发育和疾病的了解。

脑血管网络在结构上是否具有一定的空间规律呢？如果有，那么这种规律是否会受到外界因素的影响？脑血管网络的各种参数（包括长度、表面积、体积等）是

否与脑组成的其他两个成分——神经元和胶质细胞之间有一定的关系？目前，由于没有合适的标本和三维图形分析手段，我们还无法回答这些问题。与脑血管网络类似，肺是由上百万根支气管构成的一个复杂结构。最近研究发现支气管空间结构是由三种简单的结构插件按照一定的时-空规律组装而成的[5]。

目前，血管研究主要使用三种标本：离体培养的血管内皮细胞、视网膜血管和活体斑马鱼躯干血管。利用这些标本，人们已经积累了许多关于血管发育的基本知识。血管形成主要包括血管生成（vasculogenesis）和血管新生（angiogenesis）两个过程[6]。前者是由迁移到位的血管母细胞（angioblast）通过细胞相互融合形成一个基本的血管网络；后者则在前者的基础上通过发芽（sprouting）或内陷（intussusception）形成新的分支。由于脑组织和血管内皮细胞分别是由外胚层和中胚层发育形成的，脑组织本身不能分化成血管内皮细胞。因而，组成脑血管的内皮细胞或其母细胞是由中胚层迁移而来，脑血管则是通过血管新生形成的[7-9]。那么，这些内皮细胞或其母细胞是通过什么路径进入大脑的？目前，已有研究工作提示这些细胞可能是通过基底动脉迁移入脑的[10]。与此相关的问题是，在脑血管形成的初始部位，是否存在一个内皮细胞库，可以向脑中源源不断地提供血管内皮细胞？

血管内皮细胞进入脑组织后，是如何组装成血管的？这些血管的管腔又是如何形成的？它们的管径大小又是由什么控制的？特别地，一个最具挑战性的问题是它们最终如何形成复杂的三维结构？在神经系统发育中，神经元生长存在大量的修剪（pruning）过程。那么，在脑血管发育中，是否也存在血管修剪呢？脑血管的生长很大程度上是由神经系统的能量需求驱动的，那么神经元的活动是否对血管的发育具有调节作用呢？它们是否决定了血管新生过程中的动态路径抉择（dynamical routing）呢？此外，一个基本问题是，哪些分子参与了脑血管的上述这些发育过程。目前，这些问题还没有答案。最近，有研究揭示经典的 Wnt 信号通路参与脑血管的分化和组装[11]。

无论对基础研究还是临床研究而言，脑血管研究的重要性都是不言而喻的。在未来十年内，探索大脑血管的发育将成为一个研究热点。

参 考 文 献

[1] Zlokovic B V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. Neuron，2008，57（2）：178-201

[2] Weber B，Keller A L，Reichold J，et al. The microvascular system of the striate and extrastriate visual cortex of the macaque. Cerebral Cortex，2008，18（10）：2318-2130

[3] Greenberg D A，Jin K L. From angiogenesis to neuropathology. Nature，2005，438（7070）：954-959

[4] Zacchigna S，Lambrechts D，Carmeliet P. Neurovascular signalling defects in neurodegeneration. Nat Rev Neurosci，2008，9（3）：169-181

[5] Metzger R J，Klein O D，Martin G R，et al. The branching programme of mouse lung development. Nature，2008，453（7196）：745-750

[6] Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature，1997，386（6626）：671-674

[7] Adams R H，Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. Nat Rev Mol Cell Biol，2007，8（6）：464-478

[8] Bautch V L，James J M. Neurovascular development：the beginning of a beautiful friendship. Cell Adh Migr，2009，3（2）：199-204

[9] Carmeliet P，Tessier-Lavigne M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. Nature，2005，436（7048）：193-200

[10] Vasudevan A，Long J E，Crandall J E，et al. Compartment-specific transcription factors orchestrate angiogenesis gradients in the embryonic brain. Nat Neurosci，2008，11（4）：429-439

[11] Stenman J M，Rajagopal J，Carroll T J，et al. Canonical Wnt signaling regulates organ-specific assembly and differentiation of CNS vasculature. Science，2008，322（5905）：1247-1250

撰稿人： 杜久林

中国科学院神经科学研究所

审稿人： 何　成　郑　平

幼态持续现象在人类进化中的作用

——从头骨到遗传学

The Role of Neoteny in Human Evolution: From Crania to Genetics

人类（*Homo sapiens*）与其亲缘关系最近的物种黑猩猩（*Pan troglodytes*）在进化上相距 600～700 万年[1]。从进化角度上看这段时间很短，因而两者在遗传上十分相近，基因组序列只有约 1%的差异[2]。相比之下，我们熟悉的小鼠（*Mus musculus*）和大鼠（*Rattus norvegicus*）在进化上就相距较远，遗传上也仅有 80%左右的相似度。在进化上如此短的时间里，现代人类的祖先进化出了一系列特征，例如两腿直立行走、与食指相对的大拇指，以及比黑猩猩大 3～4 倍的大脑。与这些解剖学上的变化相对应的是，人类进化出了独特的认知和社会能力，如工具制造、借助语言进行口头交流，以及复杂并快速发展的文化。相比之下黑猩猩等其他现存灵长类的认知能力即使真的存在，那也仅仅表现为最原始的形式。这一现象引人深思：如此复杂的人类认知能力是如何在这样短的时间内进化出来的?

这一问题的答案或许并没有许多人想象的那么复杂，复杂的解释在这里可能言过其实。这是因为复杂的进化修饰需要的时间远不止 600 万年。换句话说，在这段时间里人类进化来不及建立起如此复杂的全新特征。长期以来进化生物学家就已经意识到新的特征很少无中生有，而更常见的是自然选择作用于已有的特征上，物种在新的内外环境中利用它们，或在个体发育过程中重构它们：前者被称为预适应性（preadaptation），比如所有的哺乳动物都具有咽喉，但只有人类用它来发声，因此咽喉被人类祖先通过预适应的过程来表达语言和发声；后者即重新构建现有结构的作用，通常表现为发育时间和速率的改变，这种修饰被称为异时性（heterochrony），或差异时间安排（differential timing）。

德国博物学家 Ernst Haeckel（1834—1919）首次把异时性作为一种进化机制引入，他也是最早阐述胚胎发育和系统发育间关系的科学家之一。20 世纪末，随着细胞生物学和发育生物学的迅速发展，从发育角度理解进化过程的看法越来越得到青睐。当代最著名的进化生物学家之一 Stephen Jay Gould（1941—2002）在其 1977 年的著作《个体发育与系统发育》（Ontology and Phylogeny）[3]中，收集罗列了发育修饰（如异时性）在新特征进化过程中起作用的诸多例子。如同 Gould 和其他学者生动描述的那样，异时性容易导致物种的大小和形态方面的变化，例如延长分泌生长激素的时间可能导致体型的增大。Gould 还描述了植物、软体动物、哺乳动物等众多物种，来说明发育时间的改变对新表型的进化所起的作用。

发育时间的改变有各种不同的类型。异时性中有一种重要机制称为幼态持续（neoteny），用来形容物种发育过程的推迟，以及由此导致的与祖先未成熟形态相似的表型。幼态持续现象可能发生在整个生物体上，也可能只影响特定的器官系统。经典的幼态持续例子来自于一种叫做美西螈的蝾螈。虽然大多数蝾螈在它们的变态过程中失去了鳃，但在美西螈中此发育过程却由于改变了的激素产生模式而被抑制。结果使得成年的美西螈仍保持了鳃结构，从而与未成熟的幼年蝾螈相似[4]。美西螈因此被描述为“幼态持续的”。

幼态持续现象长久以来引人关注。19 世纪之后的形态学研究注意到成年人类和幼年黑猩猩外形具有相似性。以人类的脑形成（encephalization）为例，人类有相对较大的脑部，且脑部/身体比例更类似于年幼的其他灵长类，而非成年个体。再以颌部大小为例，黑猩猩和其他类人猿具有比较大的颌部，相比之下，人类则保持着较小而不太发达的颌部。牙齿小，脸部扁平，这些特征都使人类的面部与幼年黑猩猩相似（图 1）。但是人类究竟为何与幼年的黑猩猩形似呢？答案可能在于发育时间。与其他灵长类相比，人类发育迟缓。例如，雌性黑猩猩在 8～9 岁达到性成熟，而女性人类性成熟则要到 13 岁左右。另外，人类有相对较长的幼年时期，在这段时间中，他们依靠父母的养育。

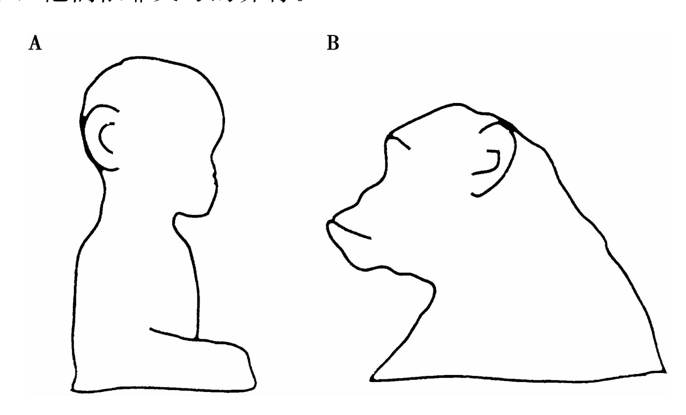


图 1　成年和幼年黑猩猩的比较

A. 幼年黑猩猩；B. 成年黑猩猩

Gould 等学者提出以上两方面的观察存在着内在的联系。成年人和幼年黑猩猩的相似性根源于人类发育迟缓，幼年时期较长。Gould 认为人类的发育延迟，或者说幼态持续，对人类的进化至关重要。据其所述，幼态持续能解释许多人类特异的解剖学特征，如头骨的形态（上文已经提到）、人类的颏部，以及体毛缺乏[3]。其次，他注意到延长的人类幼年期或许是人类智力进化的关键因素，人类 3 岁婴儿的认知能力和黑猩猩相近，但在幼年和青春期，人类的认知能力获得了迅猛发展，远远超过了其他物种。这是怎样发生的呢？人类幼态持续假说认为，

人类脑部和其他灵长类相比在更长的时间内保持了未成熟的状态，此时，大脑可塑性更强，学习效率更佳。由于人脑在更长时间内保持强可塑性，再加上人类独特的交流能力，人脑不断吸收同化那些已经存在于群体中的文化知识，不断实现其成熟过程。

如 Gould 所说，延迟的人类发育，或者说幼态持续，在人类进化中发挥了关键作用。也就是说，没有这种延迟，许多人类特异的特征，包括人类的认知能力，或许不可能产生。尽管幼态持续假说非常流行，它的证据和方法学却受到了许多人类学家和古生物学家的批评[4,7]。最大的质疑是幼态持续的证据完全来自解剖学比较，而在解剖学研究中，同源变化或相似性变化，以及大小和形状的变化很难区分。因此，许多人类特征在有些学者看来是幼态持续导致的，在另外一些学者看来则是其他类型的异时性所致。这些关于人类异时性的讨论迫使科学家们通过更加深入地了解发育过程的分子机制来理解发育模式的进化。

其中的一种分子过程是基因表达水平的变化，即 mRNA 水平随发育过程的变化[4]。mRNA 水平反映了蛋白质水平，蛋白质水平则反映组织细胞和内各种微观组分、酶、或信号分子的含量。由此，通过监测 mRNA 水平，我们有可能推测出组织的结构与功能。在过去三十年中，分子进化和发育领域的研究不断发展，许多在模式生物中的工作证明了简单的遗传变化可以导致异时性，并进而形成新的表型。由于很多发育开关依赖于基因表达水平的变化，基因表达自身的异时性成为一个具有前景的研究方向。在果蝇和小鼠中，基因表达时间的延迟已经显示出对表型的巨大影响，而且单个基因的表达是单维数据，容易测量。最近二十年来基因芯片和测序技术的发展更使我们能够同时测量数以千计的基因表达量，从而平行地分析不同的基因在发育过程中的变化轨迹。但是究竟该如何应用这些新方法来研究人类的幼态持续呢？

三十年前，M. C. King 和 A. Wilson 提出：揭示人类和类人猿脑发育过程中基因表达时间的差异将是理解人类进化的关键[6]。令人鼓舞的是，比较人类、黑猩猩和一个外类群物种恒河猴基因表达的首例研究就在脑部发现了一个独特的现象：人类脑部的基因表达和其他灵长类动物相比更为不同，而血液和肝脏中的基因表达却没有显示出这样的人类特异性。但是这些早期研究主要关注成年样本[5]。尽管如此，对人类和黑猩猩发育过程中的分子水平差异的研究却仍然明显落后于模式生物中的研究，其主要原因是实验样本的缺乏。

比较人类和黑猩猩在发育过程中分子水平差异的首例研究发表于 2009 年[9]，该研究关注脑部额皮层区从出生到成年整个发育过程中的基因表达变化，结果表明脑部发育中的基因表达变化在灵长类动物中基本上是保守的。但是，相当一部分基因确实表现出物种间表达变化速率的特异性。有趣的是尽管在解剖学和生理学上人类的发育与黑猩猩相比发生了延缓，但在基因水平上却看不到相一致的延缓特征。

事实上大多数基因表达在物种间没有区别，一些基因在人类中表现为幼态持续（图2），另一些则发生了加速，这显示整个转录组的进化可能遵循一种嵌合的模型，即不同的基因有不同的发育速率。同时，这项研究确实鉴定出了一群在人类中分子水平变化表现为幼态持续的基因。值得注意的是，在脑部幼态持续的表达模式比其他模式更常见，而且这群基因多是特异的在脑部灰质中表达。这些基因在人类幼年晚期和青春期表现出最大限度的延迟，而此时也正是人类额皮层区灰质成熟的关键时期。这项结果支持了幼态持续延长人脑成熟时间这一论点。由此，幼态持续现象可能为人类从周围环境中获取更多的知识提供了必需的时间。

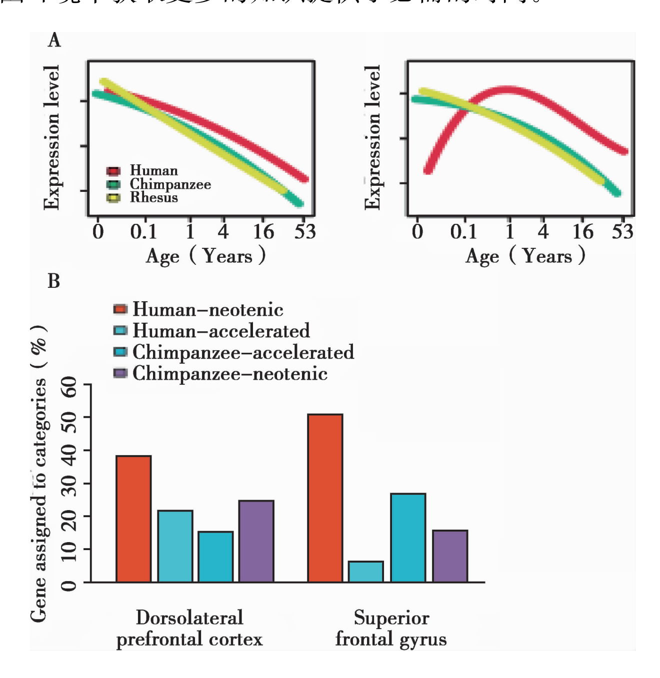


图 2　人类脑部特定基因表现出幼态持续特征

A. 人类幼态持续基因的例子；B. 人类和黑猩猩两个脑部区域不同异时性基因的比例

数据来自（文献［9］）

这项工作仅仅是对人类脑部发育分子特征的初步探索，也牵涉出诸多可以进一步探索的方向。

第一，这项工作只包括了一个脑部区域，由于脑部的不同结构在人类个体发育过程中以不同的速率达到成熟，观察其他脑部区域和组织是否也有类似的幼态持续现象就显得十分重要。由于发生幼态持续的基因主要和脑部灰质相关联，其表达模式可能在脑部具有结构或细胞类型特异性。

第二，人类特异的幼态持续表达模式的调控机理也需要研究。主要的问题是：所观察到的不同基因的幼态持续是由一个主要的进化变化造成的，例如单个

转录因子的表达延长，还是由多个小的进化修饰造成的？异时性的表达模式能在不同的水平上被调控，转录因子和 miRNA 的含量变化，调控因子的调控效率，mRNA 降解过程的效率，或者染色质结构的不同都是可能的原因。这些反式作用因子的变化又可能源自其 DNA 水平上的顺式变化，或者别的反式因子（细胞内信号、邻近细胞信号或系统信号如激素）。整个作用网络非常复杂，不过关于它的信息正不断增加。所以我们有理由期望在将来能够发现人类幼态持续的终极分子机制。

第三个或许也是最具挑战性的任务是将鉴定出的分子遗传特征与人类特异的表型特征联系起来。一方面，它需要我们对人类和黑猩猩在解剖学，生理学和认知能力上的差异有更好的理解；另一方面，它依赖于模式生物的应用，以及从人类变异和认知能力缺陷研究中获得的各种表型和分子信息[5]。但是，这两种方法在技术上都有限制。在大多数情况下，关于人类和黑猩猩之间分子水平差异的表型效果的结论，都建立在间接而非直接的证据上。

第四，人类和黑猩猩之间异时性差异的发现将为我们提供重建进化历程的机会。群体遗传学分析可能会有助于估计特定幼态持续事件在人类分支中发生的时间，这些变化很可能发生在进化上并不久远的过去。事实上，古生物数据指出延缓的生长和发育是人类进化历史上十分晚近的事件。甚至连现代人类的“表兄弟”——尼安德特人（与现代人类仅仅在大约 40 万年前分开）也比现代人类生长和发育得更快[8]。所以，结合基因表达分析、发育生物学模型、比较基因组学以及表型数据，我们最终将可能确定幼态持续现象在人类进化历史中的真正作用。

参 考 文 献

［1］ Carroll S B. Genetics and the making of *Homo sapiens*. Nature，2003，422：849-857

［2］ Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium. Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. Nature，2005，437：69-87

［3］ Gould S J. Ontogeny and phylogeny. Harvard University Press，Cambridge，MA，1979

［4］ Horder T. Heterochrony. *In*：Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons，Chichester，2006

［5］ Khaitovich P，Enard W，Lachmann M，et al. Evolution of primate gene expression. Nat Rev Genet，2006，7：693-702

［6］ King M C，Wilson A C. Evolution at two levels in humans and chimpanzees. Science，1975，188：107-116

［7］ Klingenberg C P. Heterochrony and allometry：the analysis of evolutionary change in ontogeny. Biol Rev.，1998，73：79-123

［8］ Smith T M，Toussaint M，Reid D J，et al. Rapid dental development in a Middle Paleolithic Belgian neanderthal. Proc Natl Acad Sci USA，2007，104（51）：20220-20225

[9] Somel M，Franz H，Yan Z，et al. Transcriptional neoteny in the human brain. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106（14）：5743-5748
[10] Tomasello M. Origins of human communication. MIT Press，Cambridge，MA，2008

撰稿人：Mehmet Somel 唐 麟 Philipp Khaitovich
中国科学院上海生命科学研究院计算生物学研究所
审稿人：何 成 郑 平 吴青峰

如何调控受体和离子通道在细胞膜上的数量和精确定位

How to Regulate the Number and Precise Localization of Receptors and Ion Channels in the Cytoplasm Membrane

神经元作为组成神经系统的基本单元，其形态结构极为复杂，形成了轴突、树突及突触等多种高度特化结构。通常情况下，上一级神经元的轴突末梢与下一级神经元的树突或胞体形成突触联系，形成神经环路。在神经信号传递过程中，轴突末梢通过突触囊泡将神经递质释放到突触间隙，作用于突触后膜上相应的受体，导致离子通道开放和膜去极化等活动，完成神经信息的传递。与此同时，神经递质和调质也可作用于轴突末梢，即突触前膜上的受体和离子通道，对神经递质的释放进行调制。此外，存在于神经元胞体、树突和轴突膜上的离子通道还在动作电位的产生和传播中起关键作用。因此，神经递质受体和离子通道是承载和执行神经元信息感受和传导的重要蛋白质，神经递质受体和离子通道在细胞膜上的精确定位和动态调节是神经元功能高度特化的基础，对神经信息传导具有特殊重要的意义。也正是因为受体和离子通道在神经元功能中的关键和重要作用，一旦神经元中受体和离子通道的定位和数量调控发生异常，会直接导致神经元信息处理的错误和障碍，可能是神经和精神性疾病的发生机制之一。

受体和离子通道是单次或多次跨膜的蛋白质，在粗面内质网合成，经过高尔基体和囊泡转运，插入到细胞膜上；或经过长距离的运输，插入到神经元轴突、树突和突触的细胞膜上。神经元还可以利用存在与远端树突的粗面内质网和高尔基体就地合成受体和离子通道，并就近插入树突膜或突触。分布在细胞膜上的受体和离子通道在其配体作用或被激活时可以发生内吞，部分受体和离子通道可以再循环到细胞膜上发挥作用，部分经溶酶体降解。近来还发现突触与非突触部位也可以在细胞膜上通过侧向移动来实现受体和离子通道的重新分布。一方面，不同的受体和离子通道在神经元不同膜亚细胞区域的定位受到精确控制，直接与其发挥的功能有关。例如，电压门控的钠离子通道和一些钾离子通道（如 KCNK 通道）分布在神经元的轴丘部位，这种特殊区域的定位决定了发放动作电位的阈值；动作电位在沿着轴突传播的过程中，在有髓鞘的轴突中动作电位是跨越郎飞氏结进行跳跃性的传导，进行这种传导的结构基础正是电压门控的钠离子通道和钾离子通道在郎飞氏结附近的聚集分布；动作电位传导到神经末梢，激活在那里聚集的电压门控的钙离子通道引起钙内流和神经递质的释放[1]。另一方面，离子通道和受体在神经元不同膜亚细

胞区域的分布数量也受到动态调控，直接与神经系统的功能调控相关。例如，神经递质谷氨酸的 AMPA 受体在神经元突触后膜上的数量会发生动态变化，这种调控大多是神经活动依赖的，涉及许多信号通路的调节，AMPA 受体在突触后膜上的这种动态变化是造成长时程增强（long-term potentiation，LTP）和长时程抑制（long-term depression，LTD）等突触可塑性现象的重要分子机制，而突触可塑性又是解释学习和记忆等高级脑功能的核心假说[2]。

那么，受体和离子通道在细胞膜上的精确定位和数量调控又是如何进行的？从受体和离子通道蛋白质本身考虑，是否在分子内部有一些信号和关键结构域来决定其特定膜亚细胞区域的精确定位？从外界相互作用的蛋白质考虑，受体和离子通道是否可以通过与特定膜亚细胞区域定位的蛋白质发生相互作用，将它们锚定在这些区域发挥功能？或是与受体和离子通道运输过程需要的囊泡相关蛋白、微管运输相关蛋白、脚手架蛋白（scaffold protein）和接头蛋白等发生相互作用，被运输到特定的膜亚细胞区域？从外界可能的调控因素和神经元内部调节信号通路考虑，是否通过激酶、磷酸酶和泛素化酶对受体和离子通道以及相互作用蛋白的修饰调控受体和离子通道在细胞膜上的定位和数量？通过这些可能的调控，受体和离子通道最终在神经元细胞膜表面或突触上形成一个表征神经信息处理功能的界面。

以上相关研究方向都有了一些进展[3]。电压门控的钾离子通道 $K_v4.2$ 能够选择性地被运输到神经元的树突，定位于树突膜上。研究表明 $K_v4.2$ 分子内部一个含双亮氨酸的 16 个氨基酸的序列对该通道树突的定位是必需的，$K_v4.2$ 从高尔基体被分选到一种极性运输的囊泡中，这类囊泡被选择性地运输到树突中。具有同样极性转运和定位机制的还有转铁蛋白受体。但这类囊泡为什么会被选择性地转运到树突中还不得而知。电压门控的钠离子通道 $Na_v1.2$ 选择性地定位于神经元的轴突，且主要位于轴突的起始段，这是由于 $Na_v1.2$ 的 C 端有一个含双亮氨酸的 9 个氨基酸的序列在起作用。这段基序可以和接头蛋白-2（AP-2）结合，介导分子在树突膜上特异性的内吞，但在轴突膜上却不发生这样的现象，使分子在轴突膜上被保留下来。然而尚不清楚的是，这一机制并不发生在含有同样序列的 $Na_v1.1$ 和 $Na_v1.6$ 上。取而代之的是，在电压门控的钠离子通道 $Na_v1.1$、$Na_v1.2$、$Na_v1.3$ 和 $Na_v1.6$ 分子中都有一段 27 个氨基酸的结合锚定蛋白（ankyrin）序列，通过与轴突起始段富集的锚定蛋白结合定位于此。对突触后受体的精确定位和动态调节已有较深入的研究，如离子型谷氨酸受体（AMPA、NMDA 和 KA 受体）的细胞内羧基端都存在与突触后支架蛋白等相互作用的功能区，这可能是决定了其突触定位和动态调节的分子基础[4]。

目前，受体和离子通道在神经元细胞膜上的精确定位和数量调控机制远没有解释清楚。发现不同的受体和离子通道在细胞膜上的精确定位和数量调控所依赖的分子内部信号序列、相互作用蛋白、外界因子和信号通路的调节，描述以上这些因素

协同作用所依赖的细胞生物学过程，阐明不同的受体和离子通道在细胞膜上精确定位对神经元和神经环路功能的影响，发现受体和离子通道在神经元中定位和调控异常对神经和精神性疾病发病的贡献，将有助于对基本神经生物学和细胞生物学理论的理解，也有助于开发对神经和精神性疾病新的治疗策略和新的药物靶点。

参 考 文 献

［1］ Lai H C，Jan L Y. The distribution and targeting of neuronal voltage-gated ion channels. Nat Rev Neurosci.，2006，7：548-562

［2］ Shepherd J D，Huganir R L. The cell biology of synaptic plasticity：AMPA receptor trafficking. Annu Rev Cell Dev Biol.，2007，23：613-643

［3］ Arnold D B. Polarized targeting of ion channels in neurons. Eur J Physiol.，2007，453：763-769

［4］ Newpher T M，Ehlers M D. Glutamate receptor dynamics in dendritic microdomains. Neuron，2008，58：472-497

撰稿人：[1] 鲍　岚　[2] 罗建红

1 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所

2 浙江大学

审稿人： 郑　平　何　成

解析神经元离子通道的结构与功能

Structure and Function of Neuronal Ion Channels

神经突触的化学传递最终是通过突触后膜离子通道开放所致的跨细胞膜离子流动来实现神经信号转导的。因此，离子通道是神经信号发生和信息处理的基础，对神经元兴奋性、突触功能及细胞存活至关重要。例如，兴奋性突触传递主要由谷氨酸受体通道（又可细分为 AMPA、NMDA 和 KA 等亚型）介导，引起 Na^{+} 和 Ca^{2+} 等阳离子进入细胞内及细胞的去极化；而抑制性突触则主要由 γ-氨基丁酸受体通道介导 Cl^{-} 进入细胞内和引起细胞超极化。离子通道从本质上讲是位于细胞膜上的一类特化的蛋白质大分子。长期以来，许多化学小分子（包括一些天然神经毒素和多种神经递质类似物），是离子通道研究的必备工具药。20 世纪末以来，随着膜片钳技术（曾获得 1991 年诺贝尔生理学或医学奖）的广泛运用，在分子水平研究离子通道的生理特性和功能，代表了神经生物学最活跃和最富成果的前沿学科分支之一。同时，转基因和基因敲除技术也被应用到整体动物，如研究离子通道受损后对脑功能及机体健康的影响。大量证据表明，膜离子通道参与广泛的生物学功能，诸如学习记忆、疼痛感受、情绪调节、肌肉收缩等。离子通道结构与功能的改变会导致诸多疾病的发生。因此，以离子通道为靶标的生物医药研发也引起了广泛关注。

离子通道结构的测定是了解离子通道的结构、功能最为有效的手段。原子尺度上离子通道电/化学信号的产生、传播、转换等悬而未决的问题，可通过直接的蛋白质的分离和三维结构鉴定而得到解决。在此基础上，使人们有可能从基因组学、蛋白质组学、分子细胞生物学及生物体整体水平上理解神经系统功能活动和信号传递的原理。

目前，蛋白结构的测定主要利用 X 射线晶体衍射、核磁共振质谱、电子晶体学/高分辨电镜来获得蛋白质的三维结构（表 1）[1-3]。X 射线晶体衍射是获得蛋白质原子分辨率三维结构的主要手段，但其前提是必须获得高质量的单晶，而且 X 射线晶体衍射技术的不稳定性决定了其耗时、耗力、成功率低等特性。电子晶体学[4]是近十年逐渐发展起来的确定蛋白质三维结构的方法，它解析中等分辨率的蛋白结构比较快，但要获得原子级分辨率仍存在很多困难。核磁共振质谱技术可以测溶液中的大分子，这样就可以尽量捕捉到近生理状态下的分子结构，但是这种技术仅适合测定分子质量相对较小的生物大分子，而且耗时相对较长[5]。最近的 *Nature Methods* 报道[6]，隶属于美国能源部的劳伦斯伯克利国家实验室的科学家们开发出一种利用小角度 X 射线散射技术测定蛋白质结构的新方法。此方法对处于自

表 1　确定蛋白三维结构的手段[1]

技术	样品	分辨率	每个条件所需要的蛋白的质量	分子质量
X 射线晶体学	三维晶体	高于 3.5Å	20～40μg	没有限制
电子晶体学	二维晶体	高于 8.0Å	5μg	没有限制
	单颗粒	低于 20Å	0.3μg	＞500kDa
核磁共振	蛋白质溶液（^{13}C，^{15}N 标记）	高于 3.5Å	0.5mg	＜40kDa

然状态下（如在溶液之中）的蛋白质进行成像，X 射线散射产生的强光可以使实验所需材料减至最少，这使得该项技术可以用于几乎所有生物分子的研究。此外，这种方法使过去需要几年时间完成的工作仅需要几天即可完成，大大提高了蛋白质结构研究分析的效率，但是其最大缺点为所测结构分辨率不高，只有约 10Å。

由于离子通道是膜蛋白，对其开展结构测定，需要面对更多的难题。例如所测得的膜蛋白质结构是否代表蛋白质在体内的真实折叠状态[7]？许多膜蛋白质在体外培养物中不能表达，或不能正确折叠，或聚集成块从溶液中析出，这也正是蛋白学科研究面临的一个瓶颈问题。现有研究认为，蛋白质的体内折叠是合成与折叠共时进行的，折叠过程中存在中间态，折叠效率非常高。如何快速和高精度捕捉离子通道蛋白的折叠过程，以及获得它们在生理状态下的构象，将是一项十分艰巨的任务。以高通量、高精度、代表生物活性构象（正确折叠）为目标的新兴膜蛋白结构解析技术的发展，将成为未来几十年神经元离子通道研究领域亟待解决的重大科学难题之一。

除了结构解析之外，化学生物学和计算生物学所具备的一些优点，使其在研究离子通道的结构与功能方面也发挥着独特的作用。化学和计算方法与功能性分析相结合，尤其有助于阐明离子通道配体结合位点，通道离子电导和离子选择性的机制、通道孔区以及通道“闸门”的组成等。了解这些重要信息不仅可为阐明离子通道生物学功能提供基础，而且为离子通道药物设计提供化学（原子）尺度的小分子作用靶标。随着结构基因组学时代的到来以及化学神经科学等新学科的兴起，大量的膜离子通道结构与功能信息将不断被揭示，最终将带给神经科学未来更大的辉煌。

参 考 文 献

［1］ 杨福愉．生物膜．北京：科学出版社，2005：30-33

［2］ Edwards A M，Arrowsmith C H，Christendat D，et al. Protein production：feeding the crystallographers and NMR spectroscopists. Nature Structural Biology，2000，7（suppl）：970-972

［3］ Abola E，Kuhn P，Earnest T，et al. Automation of X-ray crystallography. Nature Struc-

tural Biology，2000，7（suppl）：973-977
［4］ Amos L A，Henderson R，Unwin P N T. Three-dimensional structure determination by electron microscopy of two-dimensional crystals. Progress in Biophysics and Molecular Biology，1983，39：183-231
［5］ Wagner G，Hyberts S G，Havel T F. NMR structure determination in solution：a critique and comparison with X-ray crystallography. Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure，1992，21：167-198
［6］ Hura G L，Menon A L，Hammel M，et al. Robust，high-throughput solution structural analyses by small angle X-ray scattering（SAXS）. Nature Methods，2009，6：606-612
［7］ Oganesyan N，Kim S H，Kim R. On column protein refolding for crystallization. Journal of structural and Functional Genomics，2005，6：177-182

撰稿人：徐天乐
中国科学院神经科学研究所
审稿人：郑　平　何　成

动作电位的爆发和传播机制是什么

Mechanisms for Action Potential Initation and Propagation

动作电位是神经元整合从树突来源的突触传入后产生的输出信号，主要由膜上的 Na^+ 通道和 K^+ 通道的协同作用而产生。虽然动作电位可以在神经元的不同部位产生，包括树突（dendrite）、胞体（soma）、轴突始段（axon initial segment，AIS）和朗飞氏结（node of Ranvier）等[1-4]，但是，一般认为动作电位在轴突始段首先爆发，然后向两个方向传导：①沿轴突向突触终末传导（正向传导）；②向胞体和树突方向传导（反向传导）[2-5]。最早研究动作电位爆发和传导机制的是 Hodgkin 和 Huxley，他们在巨乌贼的轴突上分析了动作电位爆发过程中离子流的性质，发现 Na^+ 和 K^+ 离子流的相互作用介导动作电位的产生，并用通道开放和关闭的特性来描述和模拟动作电位的爆发过程[6]。这些半个多世纪以前的工作是当代神经生物学的基石，至今被广泛认同和接受。相对于巨乌贼的轴突（直径1mm）而言，哺乳动物中枢神经系统中的轴突非常细小（直径约 0.3～1μm），对这些轴突的研究一直停滞不前，仅有的部分研究都集中在一些特殊的轴突部位，如轴突的轴丘（axon hillock）、脑干耳蜗腹核神经元在内侧斜方体中包裹突触后胞体的轴突终末（calyx of held）和海马颗粒细胞的苔藓纤维终末等。因此，人们对轴突生理还知之甚少，对动作电位如何在中枢神经元上爆发和传播了解不多。由于动作电位是重要的神经元传出信号，是信息编码（如精确时间编码和平均频率编码等）的基本单元，又是神经元兴奋性的表现，对其深入的机制研究显得尤为重要。

早期免疫细胞化学结果显示 AIS 存在大量集中分布的 Na^+ 通道，理论研究和计算机模拟的结果提示高密度的 Na^+ 通道可造成 AIS 阈值降低，容易爆发动作电位，因此，长期以来，人们认为 Na^+ 通道在 AIS 高密度聚集是动作电位在此起源的决定因素。然而，早期膜片钳记录的结果显示皮层锥体细胞 AIS 与胞体上 Na^+ 电流密度没有太多的差异，只是前者的激活阈值比后者低大约 7mV，从而提示通道特性可能是决定 AIS 低阈值的原因，而非通道密度。从近期的膜片钳、离子成像及离子置换等实验看来，膜片钳记录到的低密度 Na^+ 通道可能是由于它们被紧密地锚定在细胞骨架上造成的，破坏细胞骨架系统可以增加单片膜上的 Na^+ 电流，通过各种实验手段和计算分析得出 AIS 上通道密度是胞体的大约 50 倍，为密度决定动作电位爆发位点提供了佐证。

最近，一种特殊的轴突膜片钳记录技术被发展起来[4,7]，受其影响轴突生理学将被重新关注和推进。这一技术的关键是在脑薄片上记录被切断的轴突端，轴突被

切断时在其近胞体端形成一个球形膨大（直径约 2～5μm），该膨大为轴突记录提供了很好的记录位点。利用这一记录方法和免疫荧光染色的方法证明在 AIS 上选择性分布有 Na^+ 通道亚型 $Na_v1.2$ 和 $Na_v1.6$，它们分别高密度聚集在 AIS 的近胞体段和远段。应用胞体-轴突双记录和计算机模拟等方法证明，低阈值的 $Na_v1.6$ 决定动作电位在 AIS 远段爆发，而高阈值的 $Na_v1.2$ 决定动作电位向胞体和树突的反向传播。由于胞体和 AIS 近段 $Na_v1.2$ 的阈值高，胞体膜电位需要去极化（比较正的膜电位）到一定的水平才能使得动作电位反向传导成功进行，所以 $Na_v1.2$ 起到一个“守门员”的作用[8]。是什么细胞机制造成通道亚型的这种选择性聚集还是个需要解决的问题，但可以肯定的是，不同类型神经元一定有相同的机制，因为通道亚型在 AIS 的选择性表达看来是个普遍的现象。

动作电位的爆发和传导被认为是一个十分耗能的过程，因为动作电位使得大量 Na^+ 向细胞内流动，而 K^+ 向细胞外流动，要重新达到静息时各离子的平衡状态，需要 Na^+/K^+ 泵（ATPase）的作用。在 Hodgkin-Huxley 动作电位模型中，Na^+ 向细胞内流动还没结束时，K^+ 已经开始向胞外流动，这样 Na^+/K^+ 电流存在重叠。如果把前者比做是汽车的油门，后者是刹车，油门和刹车同时作用是非常耗能的过程。最近，在苔藓纤维终末上观察动作电位的 Na^+/K^+ 电流，发现两者并不存在严重的重叠现象，因此表明，动作电位在轴突上的传导并不像人们想像那样耗能。为什么轴突上 Na^+/K^+ 电流较少重叠？这一问题还需要进一步的研究。

动作电位的正常爆发和传导是神经系统对信息处理的基本过程，是非常重要和必需的，但是动作电位异常产生和传导却可导致机体生理功能的紊乱。癫痫发作时，神经元异常兴奋，发放大量动作电位，膜电位高度去极化并最终导致 Na^+ 通道失活；在老年痴呆症动物模型上，人们发现 Aβ 淀粉样肽聚集区的神经元兴奋性发生变化，可能与学习记忆的缺失有关；因而，控制动作电位的产生和传导同样十分重要。如前所述，通道亚型在动作电位爆发和传导中发挥不同的作用，$Na_v1.6$ 通道决定动作电位爆发的阈值，是控制神经元兴奋性的关键分子；$Na_v1.2$ 通道决定动作电位的反向传播（是特定神经可塑性的基础），是控制学习记忆的重要分子，因此，它们可能是设计新型药物的重要靶向分子。

参 考 文 献

［1］ Clark B A，Monsivais P，Branco T，et al. The site of action potential initiation in cerebellar Purkinje neurons. Nat Neurosci.，2005，8：137-139

［2］ Mainen Z F，Joerges J，Huguenard J R，et al. A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. Neuron，1995，15：1427-1439

［3］ Stuart G，Spruston N，Sakmann B，et al. Action potential initiation and backpropagation in neurons of the mammalian CNS. Trends Neurosci.，1997，20：125-131

[4] Shu Y，Duque A，Yu Y，et al. Properties of action-potential initiation in neocortical pyramidal cells：evidence from whole cell axon recordings. J Neurophysiol，2007，97：746-760
[5] Kole M H，Stuart G J. Is action potential threshold lowest in the axon? Nat Neurosci.，2008，11，1253-1255
[6] Hodgkin A L，Huxley A F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J Physiol，1952，117：500-544
[7] Shu Y，Hasenstaub A，Duque A，et al. Modulation of intracortical synaptic potentials by presynaptic somatic membrane potential. Nature，2006，441：761-765
[8] Hu W，Tian C，Li T et al. Distinct contributions of Na_v1.6 and Na_v1.2 in action potential initiation and backpropagation. Nature Neuroscience，2009，12：996-1002

撰稿人　舒友生
中国科学院神经科学研究所
审稿人：郑　平　何　成

神经系统信号传导的精确性和特异性是如何形成的?

How Is the Specificity in Neuronal Circuits Achieved?

人类感知、学习、记忆、思维、情绪等高级功能均依赖于神经系统正确的信号传导，神经信息处理的紊乱，最终引发神经、精神疾病。然而，由于神经系统的高度复杂性使得我们对神经系统信号传导究竟如何发生，是什么机制确保信息传导的连贯性、精确性，一直不能解答。以人类大脑为例，它是已知世界最为复杂的物体，由超过1000亿（10^{11}）的神经细胞，通过约10^{15}神经突触相互连接而构成。这样庞大的网络系统是如何实现信号传导的精确性和特异性的呢？其中有两个问题需要解决：首先，神经细胞与神经细胞之间往往相隔甚远，是通过什么机制的引导，神经细胞才能到达靶细胞所在位置的？其次，到达靶细胞所在位置之后，神经细胞如何从大量相似，却又不同的细胞中甄别出正确的靶细胞，并与之形成信号传导所必需的神经突触的？

为了解决第一个问题，神经细胞采取了轴突延伸的策略：利用高度灵动的生长锥（growth cone）感应周围环境中的导向分子，从而引导神经细胞的轴突朝靶细胞所在的位置延伸。轴突在前进过程中受到多种因素的影响，其中最主要的是具有吸引或排斥作用的导向分子，这类分子既可以通过长程也可以通过短程方式指导轴突选择正确的前进路线。目前发现的轴突导向分子家族主要有netrins、slits、semaphorins和ephrins[1]。这些分子都是分泌型或膜表面型配体蛋白，它们与生长锥上相应的受体结合，启动下游的一系列信号转导途径，调控细胞内细胞骨架的形态和构造，最终引导生长锥朝向正确的方向前进。此外，神经营养因子、细胞黏附分子、胞外基质分子等对轴突延伸也具有导向作用，其作用机制可能和netrins等相似。为什么为数不多的几类蛋白能够掌控如此复杂的神经系统的“搭线”（wiring）过程呢？以往研究观察总结出来两个现象可能可以解释：①轴突导向分子往往是多功能的，同一个导向分子，既可以吸引也可以排斥生长锥，既可以远程作用也可以近距离掌控生长锥的生长方向，甚至还有诱导分支形成，改变生长锥对其他导向分子应答的灵敏度的作用；②生长锥对导向分子的应答有很强的可塑性，往往因内在和外在的信号不同，生长锥可做相应的调适。

未来在轴突导向研究领域还有什么样的挑战和未解决的问题呢？现在比任何时候都迫切需要在体内、在发育的自然状态下，研究轴突导向的机制。比如，我们需要知道导向分子在体内的分布是如何受时空调控的，生长锥怎样知道在什么时候，

该如何对各种导向分子做出正确应答。另一个挑战则是解析细胞外的导向分子在体内是如何影响生长锥的生长及方向选择，其机制是否与体外研究相符？总之，我们希望了解少数几类导向分子究竟是怎样将超级复杂的神经系统精确布线，全部“搭对”（wired）的。

神经细胞轴突到达靶细胞所在区域之后，面临着另一抉择：如何从一群相似却不同的细胞中找到正确靶细胞，并形成突触连接，这也就是突触特异性形成的问题。与不正常的靶细胞形成突触或正常靶细胞上突触的缺失都可能导致神经信息传导、处理的失常，从而影响神经系统的功能。早发性阿尔茨海默症的早期症状就包括突触功能受损和结构性消失[2]。解剖学证据显示：对于一个特定的神经细胞，它所接触的细胞数目，一般来说远大于它形成突触连接的细胞数。这表明：神经细胞能区分突触形成细胞和非突触形成细胞。然而，由于长期以来缺乏合适的体内动态跟踪手段，我们对于神经细胞如何掌控突触的特异性了解的相当有限。半个多世纪之前，Roger Sperry 曾提出假说，认为每个神经细胞都有一套特定的分子标签，两个神经细胞之间是否形成突触取决于它们的分子标签是否匹配[3]。那么这些分子标签是什么呢？随着模式动物的运用，结合遗传筛选及细胞活体标记，一些膜表面黏附蛋白，例如 N-cadherin、LAR、MHC class I、Sidekicks、DsCAM、flamingo 和 SYG-1，陆续被发现在神经回路的特异性形成中有一定作用[4-6]。这些蛋白当中有很多含有 Ig 结构域（Sidekicks、DsCAM、SYG-1 等），它们选择性地表达在部分而非所有的神经细胞中。此外，在突触形成的时候，这些蛋白质往往定位在神经细胞的轴突甚至突触位置。功能缺失和功能获得性实验也表明：这些蛋白特异地调控神经细胞对靶细胞的选择，而对突触自身的组装没有影响。综合上述，膜表面黏附蛋白，尤其是 Ig 结构域家族成员可能就是 Roger Sperry 所指的神经细胞的分子标签之一。当然，确定这一点还需要更多的生物化学和遗传学证据。

神经网络的特异性构成只需要突触形成细胞间的分子标签配对吗？最近一些以线虫为模式的研究成果揭示：“路标”细胞（guidepost cell）也在突触特异性形成过程中扮演了重要角色。这些“路标”细胞既不是突触前也不是突触后细胞，但它们可以诱导轴突（突触前细胞）在特定部位预设突触形成位置，然后突触形成的另一方细胞通过对“路标”细胞的识别或其他方式，也到达该位置，从而使得突触形成发生在正确的地方[4,7]。值得一提的是，“路标”细胞的运用并不局限于线虫。海马皮层中的 Cajal-Retzius 和一些 GABA 神经细胞，以及视觉皮层中的 subplate 神经细胞，在神经系统的发育中都曾起过“路标”的作用[8,9]。然而，还有哪些细胞在神经系统发育过程中充当过“路标”角色，“路标”作用的分子机制到底是什么，我们还基本上一无所知。

需要指出，目前我们对于突触特异性形成的机制的了解，只是冰山一角，有许多的问题还没有解决，比如：突触的特异性是由很多不同基因的共同表达决定还是

由少数基因的动态空间表达多样性掌控？神经细胞表面是否真的存在一套膜蛋白组合的“编码”以介导突触的特异性形成？未来通过整合遗传学、RNAi、生物化学以及蛋白组学等技术，充分利用相关的模式动物和活体追踪手段，我们有望对复杂的神经网络的精确构成有更深入的了解。解析神经系统信号传导精确性及特异性形成的机制，必将有助于我们发现一些重大神经系统疾病的成因，并为寻找合适的预防和治疗手段提供帮助。

参 考 文 献

[1] Dickson B J. Molecular mechanisms of axon guidance. Science，2002，298：1959-1964

[2] Selkoe D J. Alzheimer's disease is a synaptic failure. Science，2002，298：789-791

[3] Sperry R W. Chemoaffinity in the orderly growth of nerve piber patterns and connections. Proc Natl Acad Sci USA，1963，50：703-710

[4] Shen K，Bargmann C I. The immunoglobulin superfamily protein SYG-1 determines the location of specific synapses in C. elegans. Cell，2003，112：619-630

[5] Shen K，Fetter R D，Bargmann C I. Synaptic specificity is generated by the synaptic guidepost protein SYG-2 and its receptor，SYG-1. Cell，2004，116：869-881

[6] Nern A，Zhu Y，Zipursky S L. Local N-cadherin interactions mediate distinct steps in the targeting of lamina neurons. Neuron，2008，58：34-41

[7] Margeta M A，Shen K，Grill B. Building a synapse：lessons on synaptic specificity and presynaptic assembly from the nematode C. elegans. Curr Opin Neurobiol.，2008，18：69-76

[8] Ghosh A，Antonini A，McConnell S K，et al. Requirement for subplate neurons in the formation of thalamocortical connections. Nature，1990，347：179-181

[9] Del Rio J A，Heimrich B，Borrell V，et al. A role for Cajal-Retzius cells and reelin in the development of hippocampal connections. Nature，1997，385：70-74

撰稿人：丁　梅

中国科学院遗传与发育研究所

审稿人：何　成　郑　平

神经信息如何编码

How Is Neural Information Represented

在神经系统中，感觉、记忆、情绪、决策等各类信息是如何编码的？我们看到的图像、听到的声音、难忍的疼痛、难忘的记忆、快速的判断、严密的计算、喜悦与悲伤等活动在我们的脑中是以何等方式存在，又是如何工作的呢？这么多复杂的信息，在神经系统中是如何被编码和解码的？人类要了解自己的大脑，必须解开这些谜团。

神经信息编码是指生物体在神经元水平和神经系统水平加工处理刺激信号（包括外部刺激和内部刺激）的方式。对神经信息编码的研究致力于探索各种刺激信息（例如光或声的强度）的性质如何被神经元的动作电位（电脉冲）序列所加载（编码），又如何被神经系统所识别（解码）[1]。因此，这方面的研究也从两个角度展开，即从编码的角度，研究神经元如何对各种刺激做出反应，以及从解码的角度，从神经元做出的各种反应推测与重建刺激信息或其某方面的性质。

目前对于神经信息编码的方式存在很多争论，在时间上可分为频率编码和时间编码，在空间上可分为单细胞编码和群体编码。

频率编码　频率编码学说起源于 1926 年 ED Adrian 对肌肉牵张感受器的开创性工作[2]，该学说认为大部分刺激信息包含在动作电位的频率中。由于同一种特定刺激在每一次作用时所引发的放电序列并不相同，有很大的变异性，而单位时间内的放电数相对恒定，因此刺激信息的特征包含在放电频率中的可能性很大，放电序列的任何时间结构都没有意义。在大部分的感觉系统，放电频率都会随着刺激强度的增强而增大[3]。频率编码效率低下，但能够非常可靠的抵御噪声[4]。由于测量频率编码相对容易，放电频率成为描述神经元性质的标准指标，在过去的数十年中得到广泛的应用。然而近几年来，越来越多的实验结果提示，放电频率这种在时间上取平均值的做法过于简单，忽略了动作电位间期中可能包含的信息，不足以描述神经系统的活动[4]。

时间编码　时间编码学说认为动作电位之间的时间间隔携带着信息[5]。研究表明动作电位之间的准确时间间隔携带信息，其时间的分辨率达到一个毫秒[6]。时间编码可以利用的放电特征很丰富，这些特征单纯用放电频率是不能描述的。例如，从刺激开始到第一个动作电位的潜伏期，基于放电间期（inter-spike interval，ISI）的概率分布的二阶或高阶矩，放电的随机性，或在时间上准确排列的特定组合（时间模式），这些都被认为是时间编码可能采用的特征[7]。动作电位串的时间结构不

仅与刺激的方式有关，也与神经元自身的动力学特征有关。基于非线性科学的神经元动力学就致力于揭示动作电位产生的特定模式与神经元的内在动力学结构之间的关系[8,9]。近年，我们研究室在感觉神经元利用单纤维和单个细胞记录技术，观察到放电序列的多种时间模式（见图 1 和图 2）[10,11]，并显示放电序列复杂性变化的非线性特征（图 3）[12]，至于这些放电时间模式与非线性特征究竟蕴含什么样神经信息尚需进一步研究。

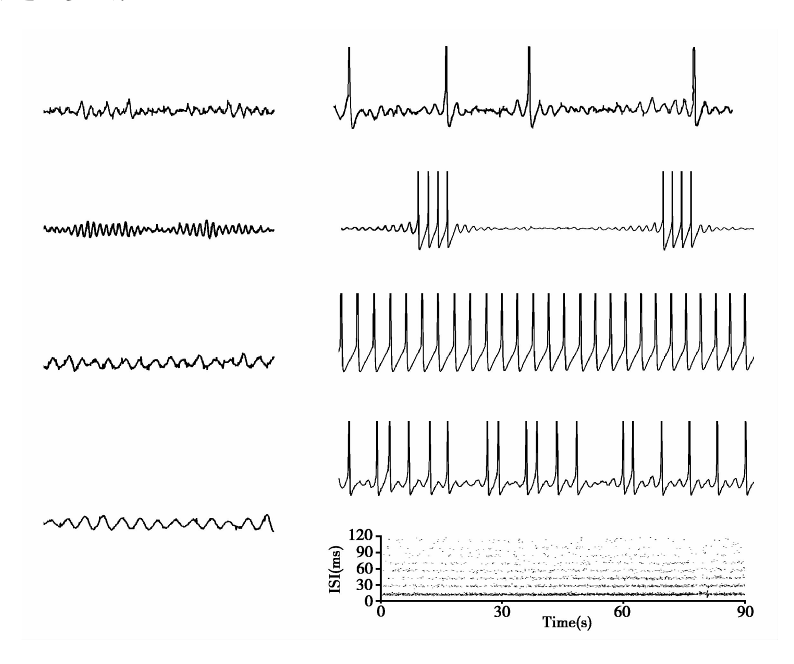


图 1　初级感觉神经元自发放电的时间模式

图中自上而下，第 1 行为不规则放电模式，左侧为阈下膜电位振荡，右侧为动作电位序列（下同）。第 2 行为簇放电（burst）模式。第 3 行为连续规则放电模式。第 4 行为整数倍放电模式。图中电位波形均为大鼠背根节的胞内记录，动作电位幅值被部分削平

单细胞编码　单细胞编码认为不同的信息是由不同的神经元激活所介导。其最初形式是由 Johannes Müller 于 1826 年提出的，他注意到不同类型的神经元对特意刺激具有高度的敏感性，强调不同类型的神经元介导不同的感觉类型。这一观点被后人称为：Müller Doctrine。Von Helmholtz 和 Von Frey 在 1860 年至 1890 年间发展了 Müller 的学说，指出不同类型的感觉（包括其亚型）是由不同类型的神经纤维（神经元）的兴奋所编码的。1906 年 Jerry Lettvin 提出“祖母细胞”假说，认为脑内有专门识别祖母面孔的神经元。1972 年 Barlow 提出单细胞学说（the single cell doctrine），其主要内容包括 4 个方面：①“单个神经元”就等于“单个功能”；②每个神经元存在最适刺激；③平均放电频率编码假说；④空间上相邻的神

经元功能相似的连续性假说。单个神经元编码假说的现代版本就是标定线路编码假说（lable-line coding）。这一假说得到大量的实验支持，如体表感觉中的触觉、痛觉、振动觉、冷觉等均存在特异的神经纤维；视觉中的红、绿、边缘、方位等特异感受细胞；某些脑区的损伤可以导致大脑对某一类物体识别的选择性缺失；正电子扫描及功能核磁共振成像研究发现，针对某一类的视觉刺激，如脸、单词、某些物体等存在特定的激活脑区。

群体编码 与单细胞编码学说相对应的是神经元的群体编码学说。该学说认为单个神经元的活动不太可能独立编码神经信息，相反，刺激信息是由一组神经元的

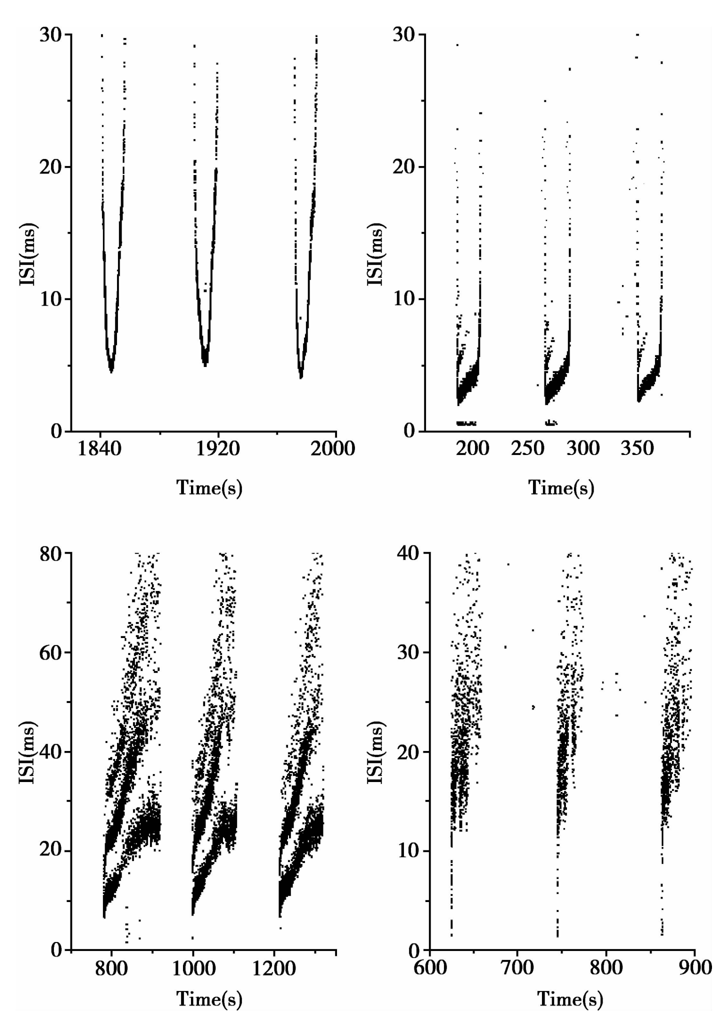


图 2 初级感觉神经元传入纤维放电时间模式的散点图

图中每个散点表示一个动作电位，纵坐标表示相邻动作电位的间隔时间（ISI），横坐标表示放电出现的时间。4 个分图分别显示 4 个不同模式的簇放电序列

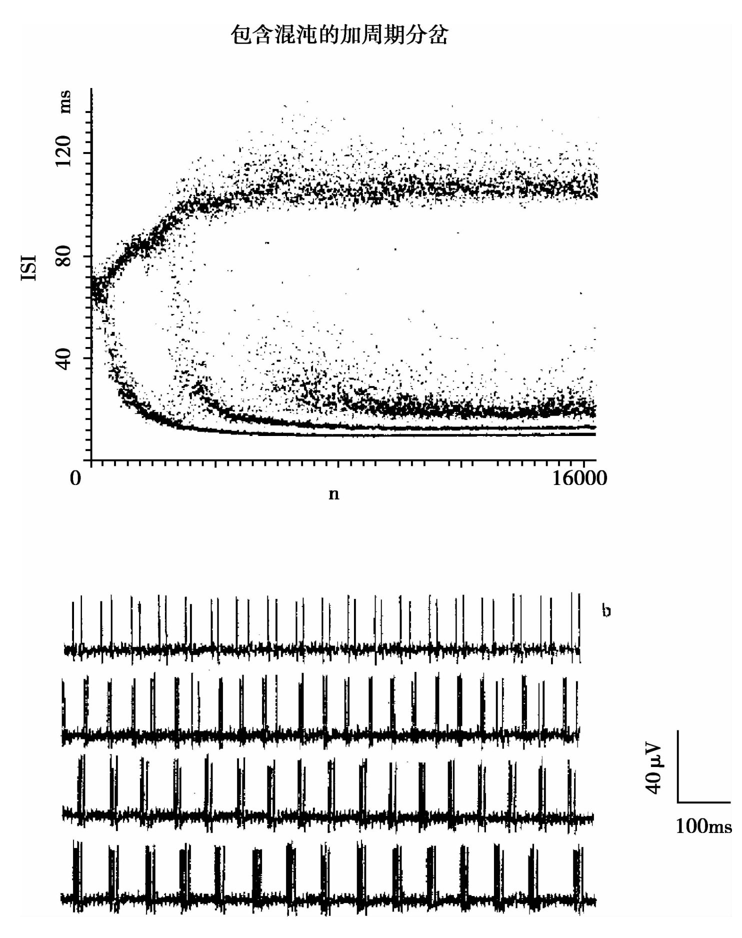


图 3　外周感觉神经传入放电序列的加周期分岔现象

上图为放电序列散点图，显示加周期分岔的非线性特征。下图为该放电序列的部分原始记录

活动所编码的。在群体编码中，单个神经元对刺激做出响应，而刺激信息的某个特征是依靠多个神经元活动的组合来决定的。已有大量实验证明，脑的感觉和运动区广泛使用了群体编码。例如，在内侧颞叶视觉区的神经元对物体运动的方向敏感[13]，当一个物体沿着某一方向移动时，内侧颞叶的许多神经元产生放电，但这种放电受到噪声的干扰，而方向信息可从神经元群体的活动中提取出来，这种群体的活动有效地抵抗了单个细胞的噪声扰动。群体编码有很多优点，避免了单个神经元活动的变异性所导致的不稳定，可以同时编码多个刺激信息或一个刺激信息的多个特征，并且可以实时反应刺激信息而不需要延迟[14]。

神经信息编码的方式并不是单一的，神经系统的不同功能单元采取的编码方式是不同的。例如，运动神经元采用频率编码，即用动作电位的频率来控制肌肉收缩

的强度，而听觉系统则采用时间编码，外界声音刺激的方位由动作电位之间精确的时间间隔来表示。迄今为止，虽然我们对神经系统的部分编码方式已经有了一些初步的了解，但神经信息编码仍然是一个神秘而未知的领域。

参 考 文 献

［1］ Brown E N，Kass R E，Mitra P P. Multiple neural spike train data analysis：state-of-the-art and future challenges. Nature Neuroscience，2004，7：456-461

［2］ Adrian E D，Zotterman Y. The impulses produced by sensory nerve endings：Part II：The response of a single end organ. Journal of Physiology，1926，61：151-171

［3］ Kandel E，Schwartz J，Jessel T M. Principles of Neural Science. New York：Elsevier，1991

［4］ Stein R，Gossen E，Jones K. Neuronal variability：noise or part of the signal? Nature Reviews Neuroscience，2005，6：389-397

［5］ Dayan P，Abbott L F. Theoretical Neuroscience：Computational and Mathematical Modeling of Neural Systems. Cambridge，Massachusetts：The MIT Press，2001

［6］ Daniel A B，Chong W，Jin J Z，et al. Temporal precision in the neural code and the timescales of natural vision. Nature，2007，449，92-95

［7］ Kostal L，Lansky P，Rospars J P. Neuronal coding and spiking randomness. European Journal of Neuroscience，2007，26：2693-2701

［8］ Izhikevich E M. Neural excitability，spiking and bursting. International Journal of Bifurcation and Chaos in Applied Sciences and Engineering，2000，10：1171-1266

［9］ Izhikevich E M. Dynamical Systems in Neuroscience：The Geometry of Excitability and Bursting. Cambridge，Massachusetts. The MIT Press，2007

［10］ Xing J L，Hu S J，Xu H，et al. Subthreshold membrane oscillations underlying integer multiples firing from the injured sensory neurons. Neuroreport，2001，12：1311-1313

［11］ Duan J H，Xing J L，Yang J，et al. Different firing patterns induced by veratridine and aconitine in injure dorsal root ganglion neurons. Acta Physiologica Sinica，2005，57：169-174

［12］ Ren W，Hu S J，Zhang B J，et al. Period-adding bifurcation with chaos in the intersspike intervals generated by an experimental neural pace-maker. Inter J Bifur Chaos.，1997，7：1867-1872

［13］ Maunsell J H R，Van Essen D C. Functional properties of neurons in middle temporal visual area of the Macaque monkey. I. Selectivity for stimulus direction，speed，and orientation. Journal of Neurophysiology，1983，49：1127-1147

［14］ Hubel D H，Wiesel T N. Receptive fields of single neurons in the cat's striate cortex. Journal of Physiology，1959，148：574-591

撰稿人：胡三觉　刘一辉
第四军医大学
审稿人：郑　平　何　成

胶质细胞的功能是什么?

What Are the Glial Cell Functions?

胶质细胞是中枢神经系统（CNS）数量最多的细胞，约占脑内细胞总数的90%，可分为三类：星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞。传统观点认为胶质细胞是脑内惰性细胞（passive cell)，其功能仅仅是对神经元的支持、营养和保护，对其研究一直滞后。近20年来，随着对动物行为的定性定量分析；利用基因敲除（或敲入）技术，培养了多种不同的转基因动物（或细胞)；基因分析学、分子生物学、免疫学、神经药物学等先进技术；各种检测手段（如Confocal显微镜、原子力显微镜、双光子显微镜、三维扫描立体电镜、流式细胞仪、高效液相色谱仪等）的开发，极大推动了对胶质细胞的研究，对胶质细胞功能的认识也在不断深入，发现胶质细胞在脑的机能活动中具有重要的作用[1]，但这仅仅是冰山一角，要全面了解胶质细胞的功能尚任重道远。

星形胶质细胞的功能

星形胶质细胞在CNS中最丰富，约占细胞总数的50%，近年来发现星形胶质细胞在脑的生理或病理机能活动中均起着重要作用，但仍有很多问题需进一步探索。

（1）星形胶质细胞在神经元发育、分化、成熟及可塑性中起作用。位于成年人和鼠室管膜下层（SVZ）和海马齿状回颗粒下层（SGZ）的星形胶质细胞（表达GFAP阳性）表现干细胞的特性（具有多潜性和自我更新能力)，能分化为神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞等。这一发现改变了对星形胶质细胞的传统看法。问题也随之而来，是否每一个星形胶质细胞在某一时点都具有神经干细胞的特性，或只是在SVZ或SGZ的星形胶质细胞才具有这种能力？是否所有的SVZ或SGZ星形胶质细胞都能具有神经发生的能力？是何因素激发SVZ和SGZ细胞的分化、迁移和成熟[1,2]？

（2）星形胶质细胞在神经元突触的建立和突触信息传递中起着重要作用。星形胶质细胞的突起伸至并包绕突触，通过神经元—胶质细胞间的化学性突触（synapses)、三成分突触（tripartite synapse)，以及gap junction等信息通路进行对话。胶质细胞具有多种受体，可被来自神经元等的信息激活，通过钙成像技术发现胶质细胞内的Ca^{2+}升高，随之引起胶质细胞合成、释放神经递质（如谷氨酸)、神经调

质或细胞因子作用于相邻的神经元[2-6]。但是仍有许多问题需要进一步研究，例如①胶质细胞是否对神经元任何水平的活动都起反应，或存在一定的阈值？②胶质细胞的活动水平是否与神经元一致？③胶质细胞是否将来自神经元的信息转变为胞内 Ca^{2+} 升高的时空特点？胶质细胞释放递质的方式很多，但机理尚不清楚，有关“glial exocytosis”观点有待进一步证实 。实验证明，星形胶质细胞使培养的视网膜节细胞之间突触数量增加 7 倍，而突触传导功能增 10 倍[7]，但其机理不明。

（3）对星形胶质细胞参与脑内血管生成，血—脑屏障（BBB）的建立和维持，以及脑内微循环的调控也取得了许多有价值的结果，提出“gliovascullar units”[8]。当内皮细胞与星形胶质细胞共培养时，内皮细胞形成毛细管样结构。BBB 是防止血液内有害物质入脑和维持脑内环境稳定的特殊系统，星形胶质细胞的终足参与 BBB 的组成，实验发现星形胶质细胞促进血管内皮细胞间紧密连接的建立和不同转运体的上调。BBB 的通透性受到多种分子（包括 ATP、endothelin-1、glutamate、IL-6 和 TNF-a、MIP-2 、nitric oxide 等）的调节，有的分子是由星形胶质细胞释放的。星形胶质细胞与内皮细胞之间对话的详细分子机制仍不清楚。星形胶质细胞的终足可释放 2 种物质，即引起血管收缩的 20-HETE 和血管舒张的 EETs[1,2, 5,8]。有待进一步研究的问题是星形胶质细胞与内皮细胞之间相互影响的机制，例如，它们之间信息交流的结构基础是什么？通过何种物质传递信息？引起释放不同物质的细胞内机制是什么？

（4）有关星形胶质细胞参与学习、记忆功能的研究很少，有研究者用鸡实验发现星形胶质细胞参与学习、记忆过程，而且与葡萄糖代谢和 glutamate 的合成、释放和吸收有关[9]。Nedergaard 研究组最近在人脑皮层发现 4 种星形胶质细胞，有的（varicose projection astrocytes）只在人和黑猩猩发现，其他 3 类（ interlaminar astrocytes、protoplasmic astrocytes 和 fibrous astrocytes）都与非灵长类有很大区别[10]。这是否提示人大脑皮层内星形胶质细胞的特化与智能活动有着某种关系。最近提出检测大脑皮质内神经元与星形胶质细胞之间的“neuromagnetic dialogue”作为研究记忆和计算的新方法[11]。胶质细胞与学习、记忆的关系是值得深入研究的大课题，是一个系统工程。

（5）在神经病理情况（脑缺血、神经病理性痛、神经变性性疾病等）下，星形胶质细胞和小胶质细胞是双刃剑（double-edged sword）。它们被激活后，有时释放神经营养因子对神经元起着保护作用，促进损伤修复；而有时则释放神经毒性因子，进而损伤神经元。在此过程中它们相互间（神经元—小胶质细胞、神经元—星形胶质细胞、小胶质细胞—星形胶质细胞）的对话起着重要的作用。有关神经变性性疾病的发病机理，特别是胶质细胞作用的研究虽然取得了某些成果，以至出现用 PET 方法检测胶质细胞的反应，以求早期诊断；并提出将胶质细胞作为治疗靶点的观点[12-14]，但目前尚属于起步阶段。主要表现是病种太多，目前已知的有 20 多

种，它们发病的原因、损伤的部位各不相同，例如老年性痴呆主要损伤前脑基底部的胆碱能神经元，帕金森氏病主要损伤中脑黑质多巴胺能神经元等。那么相关的致病因素为何具有选择性，是何因素决定的？为何有的部位之细胞能通过不同的刺激诱发相同的疾病？胶质细胞起何作用？研究发现神经元通过“off”和“on”两种信息来调节小胶质细胞的活性，“off”使小胶质细胞保持于静止状态，“on”激活小胶质细胞使之向有益或有害的方向发展[15]。这一方面仍有许多问题有待深入研究，例如神经上的“off”和“on”是否存在定位和方向性？小胶质细胞的不同功能是否是由不同的“on”信号调节？如何确定“on”信号是有益或有害？星形胶质细胞与小胶质细胞是如何进行对话的？

少突胶质细胞的功能

少突胶质细胞（在周围神经为 Schwann's 细胞）的主要功能是其突起包绕轴突并髓鞘化形成一功能单位。少突胶质细胞的功能与星形胶质细胞和小胶质细胞相比是最少的。研究发现胶质细胞与神经元之间存在对话，神经元释放 ATP 促进少突胶质细胞的分化和髓鞘的形成[16]。少突胶质细胞髓鞘化与轴突的生长、发育有密切关系，轴突释放的神经递质通过 Ca^{2+} 依赖的机制影响少突胶质细胞的所有阶段，反之少突胶质细胞合成释放生长因子和营养分子至邻近的神经元[17]。少突胶质细胞合成释放新生神经元需要的营养因子（BDNF、NT-3、ING 和 TFG-β 等）[18]。星形胶质细胞与少突胶质细胞之间存在 gap junction[19]。对髓鞘的形成过程尚有下列问题有待进一步研究：①在胎儿或婴儿的神经系统发育中，少突胶质细胞（或 Schwann 细胞）是如何分辨哪些轴突需要髓鞘的，何时开始形成髓鞘？或它如何知道是否应该转化成不形成的细胞？②轴突释放何种信息物质（是谷氨酸或 ATP?）影响了上述过程的选择？③是何机制终生维持髓鞘正常机能？

深入研究髓鞘的形成过程及其维持机制是很重要的，许多神经变性疾病最明显的组织病理学特征就是髓鞘的变性（髓鞘腔胀、断裂、溶解或脱落等）。每年，成千上万的人因脱髓鞘疾病而死亡，有更多的人因该病而瘫痪或失明。由于对髓鞘形成的分子机理以及引起髓鞘变性的机制目前尚不甚了解，因此如何修复变性的髓鞘也缺乏有效的手段，这是当前需要解决临床难点之一[20]。

小胶质细胞的功能

小胶质细胞起源于中胚层，是脑内的免疫细胞。双光子显微镜观察到活的小鼠大脑皮质浅层的小胶质细胞显示高度的分支，这些分支在不断地变化，不断地缩回、延伸或移动，伸出的丝状伪足表现极性化，汇集至脑损伤部位，有效地将细胞

碎片或小泡物质包绕并拉向胞体，胞体也能向损伤部位移动，小胶质细胞起着脑内环境监测器的作用[21]。但它是如何识别其周围环境的变化？为何能向损伤部位迁移的机制还有待进一步研究。

被激活的小胶质细胞是一把双刃剑，它一方面可释放许多细胞因子（BDNF、NT-3 等），有利于神经元的发育、成活以及抵制有害因子的伤害。有人证实面神经切断后，受损神经细胞的恢复是依赖于被激活的小胶质细胞的营养功能，这其间被激活的小胶质细胞表现大量的各种受体，参与相应的反应，形态上的显著变化是由“分支”型向“阿米巴”型转变，反之“阿米巴”型小胶质细胞也可转变为“分支”型[22,23]，但对这些转变的机理知之甚少。

另一方面被过分激活的小胶质细胞可合成、释放神经毒素有害因子，进而引起神经元的变性和死亡[24]。因此认为小胶质细胞在神经变性疾病的发病机制中起着重要的作用，而将小胶质细胞的变化作为早期诊断的标志和治疗的靶点[12~14]。被激活的小胶质细胞与星形胶质细胞的相互作用与平衡在神经变性疾病的发病机制中起着重要作用，但其对话机制仍不清楚。小胶质细胞另一个重要机能是清除脑内的各种碎片，这与它具有的相应受体有关，但详细的机制有待深入研究[25,26]。小胶质细胞上的 Purine 受体被激活后，在引起神经病理性疼痛中起着重要作用[27]。

深入研究胶质细胞功能必须解决的难题

（1）脑是由神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞和毛细血管组成的复合体，这些细胞之间形成了一个极其复杂的信息网络。无论是健康或病理状态下，脑的每一种功能活动或变化，均涉及上述细胞的反应及其相互关系。要全面研究胶质细胞的功能就必须同时观察活体脑内上述细胞对某一刺激的反应及其相互关系，这是一个有待解决的难题。当前使用双光子显微镜观察活动物皮层内某种细胞的变化是一项好的技术，但也存在局限性，如只能观察到皮质浅层的细胞，对皮质深层、深部核团以及白质内细胞的变化则无法观察到。此外还受到特异性标记某种细胞的转基因动物的限制。

（2）在脑的机能活动中，胶质细胞可合成、释放众多的信息物质（神经递质、神经调质、细胞因子等）。如何准确、微量地检测某些信息物质的变化，特别是适用于整体动物研究的方法，是必须解决的另一个难题。

（3）如何改进形态学的研究手段，探索上述细胞在机能活动中的结构可塑性，特别是显示其超微结构的变化，也是需解决的技术难题。

（4）成功建立脑功能异常的动物模型也是推动研究深入的一个关键。

总之，由于对胶质细胞功能的研究起步较晚，目前只是揭示了冰山一角，今后仍任重道远。

参 考 文 献

[1] Allen N，Barres B A. Neuroscience：Glia-more than just brain glue. Nature，2009，457：675-677

[2] Wanga DD，Bordey A. The astrocyte odyssey. Progress in Neurobiology，2008，86：342-367

[3] Bezzi P，Volterra A. A neuron-glia signalling network in the active brain. Current Opinion in Neurobiology，2001，11：387-394

[4] Fields R D，Stevens-Graham B. New insights into neuron-glia communication. Science，2002，298 (5593)：556-562

[5] Haydon P G，Carmignoto G. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. Physiol Rev，2006，86：1009-1031

[6] Theodosis D T，Poulain D A，Oliet S H R. Activity-dependent structural and functional plasticity of astrocyte-neuron interactions. Physiol Rev，2008，88：983-1008

[7] Pfrieger F W，Barres B A. Synaptic efficacy enhanced by glial cells *in vitro*. Science，1997，277：1684-1687

[8] Anderson C M，Nedergaard M. Astrocyte-mediated control of cerebral microcirculation. Trends in Neuroscience，2003，26：340-344

[9] Gibbs M E，Hutchinson D，Hertz L. Astrocytic involvement in learning and memory consolidation. Neuroscience and Biobehavioral Reviews，2008，32：927-944

[10] Oberheim N A，Takano T，Han X，et al. Uniquely hominid features of adult human astrocytes. J Neurosci，2009，29：3276-3287

[11] Banaclocha M A M. Neuromagnetic dialogue between neuronal minicolumns and astroglial network：a new approach for memory and cerebral computation. Brain Res Bull，2007，73：21-27

[12] Salmina A B. Neuronglia interactions as therapeutic targets in neurodegeneration. J Alzheimers Dis，2009，16 (3)：485-502

[13] Rossi D，Volterra A. Astrocytic dysfunction：Insights on the role in neurodegeneration. Brain Res Bull，2009，80 (4-5)：224-232

[14] Anderl J L，Redpath S，Ball A J. A neuronal and astrocyte co-culture assay for high content analysis of neurotoxicity. J. Visualized Experiments，2009，27：1-6

[15] Biber K，Neumann H，Inoue K，et al. Neuronal 'On' and 'Off' signals control microglia. Trends in Neuroscience，2007，30：598-601

[16] Stevens B，Porta S，Haak L L，et al. Adenosine：A neuron-glial transmitter promoting myelination in the CNS in response to action potentials. Neuron，2002，36：855-868

[17] Simons M，Trotter J. Wrapping it up：the cell biology of myelination. Current Opinion in Neurobiology，2007，17：533-540

[18] Svaren J，Meijer D. The molecular machinery of myelin gene transcription in Schwann cells. Glia，2008，56：1541-1551

［19］ Orthmann-Murphy J L. Gap junctions couple astrocytes and oligodendrocytes. J Mol Neurosci，2008，35（1）：101-116

［20］ Yong V W. Prospects of repair in multiple sclerosis. Journal of the Neurological Sciences，2009，277：S16-S18

［21］ Nimmerjahn A，Kirchhoff F，Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma *in vivo*. Science，2005，308：1314-1318

［22］ Rock R B，Gekker G，Hu S，et al. Role of microglia in central nervous system infections. Clinical Microbiology Reviews，2004，17：942-964

［23］ Garden G A，Möller T. Microglia biology in health and disease. J Neuroimmune Pharmacol，2006，1：127-137

［24］ Block M L，Zecca L，Hong J S. Microglia-mediated neurotoxicity：uncovering the molecular mechanisms. Nature Rev. Neurosci，2007，8：57-69

［25］ Neumann H，Kotter M R，Franklin R J M. Debris clearance by microglia：an essential link between degeneration and regeneration. Brain，2009，132：288-295

［26］ Napoli I，Neumann H. Microglial clearance function in health and disease. Neuroscience，2009. 158：1030-1038

［27］ Tsuda M，Shigemoto-Mogami Y，Koizumi S，et al. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. Nature，2003，424：778-783

撰稿人：饶志仁

第四军医大学

审稿人：郑　平　何　成

长期记忆的机制或物质基础是什么?

What Is the Mechanism or Material Basis of Long-term Memory ?

“学习与记忆”是自然界众多生物适应外界环境以求生存的重要能力。从包括线虫、果蝇、海兔在内的低等动物到灵长类的高等动物都具有这种能力，对其机制的探索一直是神经科学领域众多科学家致力解决的问题。对学习记忆的研究重点是要解决两个问题：一是记忆存储在哪里？二是记忆是如何储存的？

学习记忆主要包括陈述性记忆和程序性记忆两类，前者指对人、物、空间位置、语言、音乐、事实和事件等的记忆，一般认为长期存储在脑中颞叶及海马等部位，需要保持有意识的注意力。程序性记忆是指对技能、习惯等的记忆，存储的部位在杏仁核及小脑等脑区，一般不需要有意识的注意力。陈述性记忆包括三个关联的过程，即记忆的获得（acquisition）、巩固（consolidation）和回放（recall）。对学习与记忆的机制研究现在被广为接受的、占主导地位的是“突触可塑性学说”。该学说认为学习记忆是由外界活动经历或刺激造成的神经系统突触连接部位的结构或构成发生改变，引起突触传递功效的变化，这种变化编码了新获取的信息。“突触可塑性学说”的产生主要源于1949年提出的“Hebb假说”[1]，提出后60年来得到成千上万的实验结果支持，认为其是学习记忆、感知、发育等神经系统功能中普遍存在的基本机制，以至于现在谈到学习记忆的机制时，理所当然应提及“Hebb假说”或“突触可塑性学说”。科学家Bartlett W. Mel在文章中用调侃的语句提到：“如果在大街上随便遇到一个神经科学家问他学习记忆的机制，他会条件反射式地告诉你：‘活动依赖的突触可塑性’。”[2]

然而该观点最近十年来受到越来越多、越来越强烈的挑战。该学说的局限性也逐渐暴露出来。最为“大胆的冒犯者”是以Yuri I. Arshavsky及Sandra Peña de Ortiz为代表的在神经科学界资历相对较浅的科学家，他们最初的置疑受到的关注并不多，随着越来越多的支持者加入，他们的观点逐渐被重视。他们把“突触可塑性学说”的局限性形象地归纳为“七宗原罪”（the seven sins）[3]，主要包括：“突触可塑性学说”不能解释记忆的长期性。该学说认为新记忆的获得需要新蛋白质的合成，然而新合成蛋白的更新（turnover）至多需几个月，如何维持新蛋白所“携带”的长期记忆是一个绕不过去的问题；尽管该学说的支持者提出一些包括自我永久化（self-perpetuating）的翻译及翻译后机制在内的其他补充机制，但也只能解释长达几天或几周的现象。该学说提出的记忆获得与重获取（或回忆）使用相同机制的观点同样存在严重缺陷。如果突触可塑性造成的突触结构的改变编码了新获取的

信息，那么按照该学说观点记忆重获取或回忆过程应该再次激活这些突触结构，必然会造成又一次可塑性，从而影响已获得记忆的稳定性，因此记忆的获得及重获取很可能使用不同的脑区或不同的机制。许多实验结果已证实这一点。例如颞叶是记忆获取的重要脑区，与事实及事件等的短期记忆直接相关，实验或手术切除后可影响短期记忆，对长期记忆无明显影响。长期记忆的脑区主要为新皮质，很显然不能把这两个脑区的工作机制与功能等同起来。因此在这种情况下，可塑性学说的记忆重获取是对同样突触结构的再激活观点是不可能发生的。另外，突触与系统水平的记忆巩固存在不同时间特性，突触可塑性编码的记忆通常先于系统水平的记忆巩固与长久化，突触记忆往往仅需几个小时，而系统记忆则涉及几周、几个月甚至几年时间。在记忆重获取后的重巩固过程中，会出现短暂的原有记忆的不稳定现象，这也不能用可塑性机制来解释。

归纳起来，“突触可塑性学说”的最大缺陷在于不能很好地解释记忆储存的长期性与永久性。那么是否有更好的学说来回答这个难题呢？机体内有什么物质是能够永久化的呢？难道是染色体 DNA？1984 年 DNA 双螺旋学说提出者之一 Francis Crick 以及 Davis 和 Squire 分别提出染色体上 DNA 结构的修饰可能编码长期记忆，这是长期记忆的基因组学说的雏形[4,5]。最近十几年越来越多的实验结果证明与 DNA 关联的染色体上蛋白质——组蛋白的修饰或 DNA 本身的修饰与学习记忆密切相关，这些修饰不改变 DNA 本身核苷酸序列，主要通过甲基化、乙酰化等实现，改变与这些修饰有关酶的活性，能够影响学习记忆的能力，故称为表观遗传水平的修饰。这种修饰可以很稳定，因而有可能是长期记忆的一种编码方式[6,7]。更为大胆的假说认为长期记忆有可能还涉及类似免疫细胞的 V（D）J 重组的 DNA 重组，或者在出生后发育早期的减数分裂机制引起的 DNA 重组，这些假说也确实获得少量的实验支持，例如抑制参与 DNA 重组的酶可以影响学习与记忆巩固[8]。另外，原来认为是“垃圾”的非编码 DNA 或 RNA 在长期记忆中的作用也值得探索。总体来说，现在对表观遗传水平的实验支持要远远多于 DNA 重组水平。

长期记忆的机制或物质基础是什么？对这个问题充分完整回答依然需要更多大量深入的研究。从长期占主导地位的“突触可塑性学说”，到逐渐显现的“基因组学说”，反映了对记忆之谜的长期探索与所取得的进步，其本质是回答长期记忆的机制到底是突触可塑性还是 DNA 或基因可塑性，这两种假说不一定是完全相互排斥的，有可能在记忆形成的不同阶段或不同脑区分别起重要作用。

参 考 文 献

［1］ Hebb D O. The Organization of Behavior. New York：John & Son Wiley，1949

［2］ Mel B W. Have we been hebbing down the wrong path? Neuron，2002，34：175-177

［3］ Arshavsky Y I. “The seven sins” of the Hebbian synapse：Can the hypothesis of synaptic

plasticity explain long-term memory consolidation? Prog. Neurobiol，2006，80：99-113

[4] Crick F. Memory and molecular turnover. Nature，1984，312：101

[5] Davis H P，Squire LR. Protein synthesis and memory：A review. Psychol. Bull.，1984，96：518-559

[6] Holliday R. Is there an epigenetic component in long-term memory? J. Theor. Biol.，1999，200：339-341

[7] Levenson J M，Sweatt J D. Epigenetic mechanisms in memory formation. Nat. Rev. Neurosci.，2005，6：108-118

[8] Colón-Cesario M，Wang J，Ramos X，et al. An inhibitor of DNA recombination blocks memory consolidation，but not reconsolidation，in context fear conditioning. J. Neurosci.，2006，26：5524-5533

撰稿人：陆　巍
南京医科大学
审稿人：郑　平　何　成

睡 眠 之 谜

The Mystery of Sleep

人生的三分之一在睡眠中度过。“日出而作日落而息”，人类数千年的文明史，让我们的先人享受良好睡眠带来的快乐。今天随着社会竞争、工作压力、不良夜生活习惯和人口老龄化等原因，全球约有三分之一的人存在睡眠问题。长期睡眠不足可导致机体免疫力低下、精神烦躁，易引发高血压、神经衰弱、心脑血管意外、心理疾患，甚至猝死。因此，相当一部分人群正处于“亚健康”状态。睡眠障碍降低日间工作效率，疲劳操作引发重大事故，经济损失难以估量，家庭、社会负担沉重。因此，睡眠障碍正成为日益严重的医学及社会问题。现在，世界各国都加大了睡眠医学研究的力度，纷纷尝试各种解决办法，但收效甚微。究其原因，是生理性睡眠觉醒调节机制未明。揭示睡眠之谜是睡眠医学亟待研究的重要课题。

对睡眠的认识是一个漫长的过程。早先从表面现象出发，认为“当人或动物处于一种静止不动的状态时，就是睡眠”。可是人在睡眠中并不是纹丝不动，我们在6个小时的睡眠里，最起码要翻身20～30次。而且，这个定义也不能将睡眠与麻醉、昏迷状态区分开来。随着脑电技术的发展，人类对睡眠的认识逐渐深入。1875年，英国生理学家Caton第一次从兔和猴上记录到脑电活动。1929年，德国精神病学家Haas Berger首次记录到了人类脑电波。20世纪50年代，美国科学家Aserinsky与Kleitman在研究婴儿睡眠时发现了以快速眼球运动为特征的“活动”相睡眠。之后，Kleitman与Dement在对成人睡眠的研究中，将脑电活动与眼球运动相结合，发现人类睡眠存在2种类型：非快动眼（non-rapid-eye-movement sleep，NREM）睡眠，又称慢波睡眠（slow wave sleep）；快动眼（rapid-eye-movement，REM）睡眠，又称快波睡眠（fast wave sleep）或异相睡眠（paradoxical sleep）。

根据脑波的波幅与频率变化，慢波睡眠又被分为4期。如图1所示，健康成年人睡眠模式是：NREM睡眠Ⅰ期→Ⅱ期→Ⅲ期→Ⅳ期→（Ⅲ期，有时不出现）→第一次REM睡眠，然后重复NREM睡眠Ⅱ期→Ⅲ期→Ⅳ期→Ⅲ期→（Ⅱ期，有时不出现）后，进入第二次REM睡眠。每晚可见4～6个上述周期。在整个夜间睡眠的后半程，深度的NREM睡眠逐渐减少，REM睡眠时间逐渐延长。2个REM睡眠平均相隔时间为90分钟。

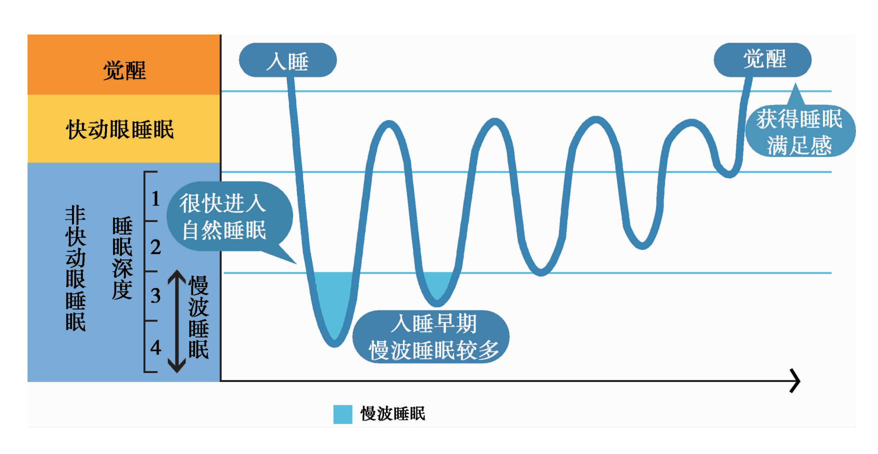


图 1　健康成年人睡眠模式

自 20 世纪 30 年代起，人们运用毁损与刺激动物特定脑区、在体记录神经细胞电活动、组织化学的 *c-fos* 表达、神经化学和神经解剖学等方法，探索睡眠—觉醒的调节机制。研究发现脑内存在睡眠和觉醒两大调节系统，分别由众多的神经核团和递质组成，可能受内源性睡眠调节物质和生物节律的调控。

如图 2 所示，觉醒系统包括：脑干网状结构、蓝斑核（locus coeruleus，LC）去甲肾上腺素能神经元、中脑多巴胺能神经元、中缝背核（dorsal raphe nucleus，DRN）5-羟色胺能神经元、外背侧被盖核（laterodorsal tegmental nucleus，LDT）/脚桥被盖核（pedunculopontine tegmental nuclues，PPT）、脑桥-中脑和基底前脑（basal forebrain，BF）乙酰胆碱能神经元、基底前脑非乙酰胆碱能神经元、下丘脑后部结节乳头核（tuberomammillary nucleus，TMN）组胺能神经元及下丘脑外侧食欲素（orexin）能神经元等。睡眠促进系统包括：下丘脑腹外侧视前区、基底神经节、大脑皮层、边缘系统、基底前脑及视前区 GABA 能神经元、脑干及丘脑的 GABA 能神经元等。其中 VLPO 的神经元轴突可投射到多个觉醒相关脑区，尤以投射 TMN 的纤维最密集，构成了 VLPO 支配觉醒系统的解剖学基础[1]。但睡眠是如何启动或维持？仍是未解之谜。

中枢神经系统内源性睡眠促进物质的研究显示，脑内有 20～30 种不同于神经递质的促眠物质。其中，前列腺素 D_2 和 ATP 代谢产物腺苷的作用最强[3,4]，若选择性激动（或阻断）腺苷 A_{2A} 受体可诱发出最强大的睡眠（觉醒）效应[5,6]。其他物质虽然有作用，但对其机制研究较少。内源性睡眠物质的来源、脑内水平的调控、作用靶点，以及如何与神经网络系统相互作用，如何调节睡眠觉醒的时相转化等都有待阐明。

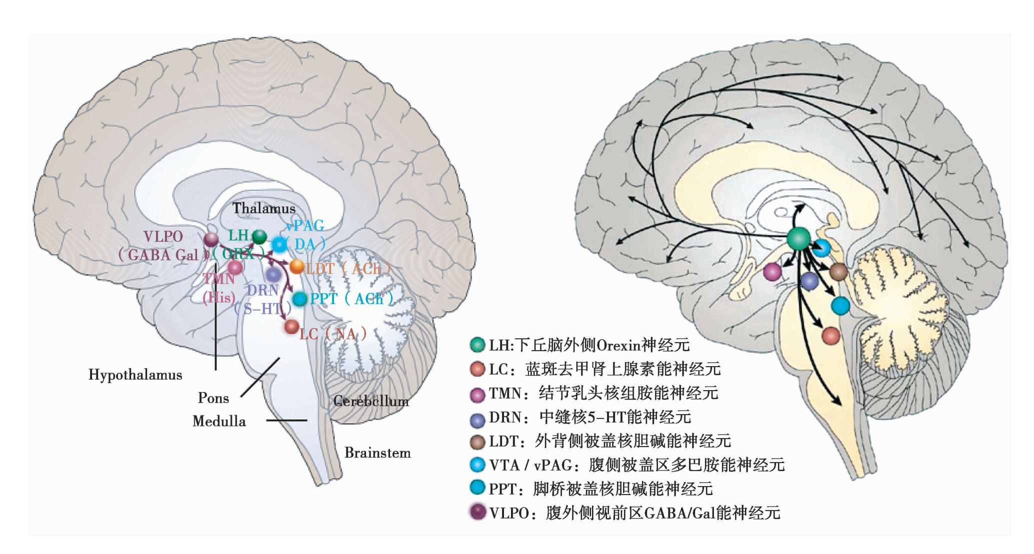


图 2　下丘脑睡眠—觉醒神经网络系统

（摘自 Sakurai，Nature Rev Neurosc，2007[2]，略有修改）

解剖学和生理学的研究结果指出，下丘脑视交叉上核（suprachiasmatic nucleus，SCN）存在哺乳动物生物钟。它是昼夜节律的一个主要起搏器，控制着机体包括睡眠-觉醒、运动、体温、心血管功能及许多内分泌过程在内的多种行为和生理节律。1972 年，人们发现大鼠下丘脑双侧 SCN 损毁后可导致机体包括睡眠—觉醒节律在内的多种昼夜节律丧失。随后，Ralph 等在移植实验中证实 SCN 是哺乳动物的生物钟中枢。1997 年起，调控的基因陆续被发现，包括 *period* 基因（*Per 1*、*Per 2*、*Per 3*）和隐花色素基因（*Cry 1*、*Cry 2*），以及 *Clock* 基因等。生物钟信号如何从 SCN 传递到睡眠—觉醒脑区，进而调控睡眠—觉醒时相，也成为睡眠科学研究的热门课题[7]。

基因操作技术也被引入睡眠医学研究。当与睡眠—觉醒相关的一个基因被剔除后，绝大多数动物的睡眠—觉醒量基本保持正常，只在一些细微环节发生改变，提示睡眠行为是生存必需的过程，受到多个系统或环节支配，一个系统受到影响，常会被其他系统所代偿[8]。当原发性内科疾病、精神疾病、生物钟紊乱、内稳态失衡和外界环境改变等因素引起代偿不能时，机体出现失眠症状。失眠也可由服用、滥用药品或暴露于某些活性物质而引起。由于缺乏能模拟人病理生理学特征的动物模型，失眠机制的研究一直受到限制，睡眠障碍缺乏特效疗法[9]。阐明睡眠机制，寻找药物作用新靶点，将有望可控性纠正睡眠障碍，实现患者睡眠模式由病理性向生理性转化。

睡眠和水、空气、食物一样重要，任何人都离不开它。睡眠能消除疲劳、恢复体力、保护大脑、稳定情绪、增强免疫、促进生长发育，并加快皮肤再生、有利美

容。睡眠与人类的高级思维、学习记忆密不可分，充足的睡眠是人类获取记忆，思维敏捷的保证。人为什么要睡眠，为什么睡眠时产生梦？梦的产生机制和功能等一系列问题，有待解决。

睡眠和梦渗透于社会文化的各个领域，为文学创作提供了大量趣味话题，但却对医学研究提出了一道探索不尽的难题。解明这道难题，任重道远。

参 考 文 献

[1] Saper C B，Scammell T E，Lu J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. Nature，2005，437：1257-1263

[2] Sakurai T. The neural circuit of orexin（hypocretin）：maintaining sleep and wakefulness. Nat. Rev. Neurosci，2007，8. 171-181

[3] Huang Z L，Urade Y，Hayaishi O. Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness. Curr. Opin. Pharmacol，2007，7：33-38

[4] Qu W M，Huang Z L，Xu X H，et al. Lipocalin-type prostaglandin D synthase produces prostaglandin D2 involved in regulation of physiological sleep. Proc. Natl. Acad. Sci. USA，2006，103：17949-17954

[5] Hong Z Y，Huang Z L，Qu W M，et al. An adenosine a receptor agonist induces sleep by increasing GABA release in the tuberomammillary nucleus to inhibit histaminergic systems in rats. J. Neurochem，2005，92：1542-1549

[6] Huang Z L，Qu W M，Eguchi N，et al. Adenosine A2A，but not A1，receptors mediate the arousal effect of caffeine. Nat. Neurosci，2005，8：858-859

[7] Colwell C S，Michel S. Sleep and circadian rhythms：do sleep centers talk back to the clock? Nat. Neurosci，2003，6：1005-1006

[8] Cirelli C. The genetic and molecular regulation of sleep：from fruit flies to humans. Nat. Rev. Neurosci，2009，10：549-560

[9] Wafford K A，Ebert B. Emerging anti-insomnia drugs：tackling sleeplessness and the quality of wake time. Nat. Rev. Drug. Discov，2008，7：530-540

撰稿人：黄志力　徐昕红

复旦大学

审稿人：何　成　郑　平

语言与脑是如何进化的

How Language Evolved with the Human Brain?

自然界的许多动物都能借助自己发出的声音进行信息沟通和交流，然而只有人类才具有真正的语言。语言是人类区别于其他动物的一个重要标志。借助和通过语言，人类可以进行文化交流，可以谈论过去并畅谈未来。人类语言的独特性也表现在人脑的功能和结构上。1861 年，法国医生布罗卡（Broca）公布了一个具有深远影响的发现：人类大脑左侧额下回盖部、三角区以及前脑岛的损伤会导致语言能力的严重丧失[1]。这个部位随后被称为“布罗卡区”（Broca's area）。不久之后，另一位医生威尔尼克（Wernicke）又报道了两例左侧颞上回损伤的患者，其口语理解能力严重受损，而口语产生能力则不受影响[2]，这个脑区后来被称为“威尔尼克区”（Wernicke's area）。此后科学家们还发现，连接这两个脑区的弓形束在语言中也有重要作用。由弓形束连接的布罗卡区和威尔尼克区构成了人类的基本语言神经网络。

与人类相比，其他动物的大脑中并不存在与人类语言神经网络相对应的神经网络。那么，语言是怎样出现的？它是在灵长类动物交往行为的基础上逐渐进化的，还是通过人脑解剖结构的突然变化而自发产生的呢？语言与脑又如何相互作用，共同演化？由于脑不会形成化石，语言的起源以及语言在人脑进化中的作用问题很难找到考古学上的直接证据，因而被称为“最难的科学问题”之一。

关于语言的起源问题，许多人从自然选择的角度来探讨。一个最简单的假设是，人类的语言是从动物的发声行为进化而来的。动物的发声行为蕴含着丰富的含义和感情色彩，而不仅仅是简单的无意义声音。例如，猩猩会发出各种不同的声音，当危险降临或发现食物时，它们发出的声音是明显不同的。因此，动物的发声行为似乎是人类语言的雏形。但是，动物的发声器官与人类的语言器官有很大差别，刺激动物的左侧额下回（相当于人脑布罗卡区的位置）不会对其发声行为造成影响。这提示人类的语言可能与动物的发声行为无关[3]。另一个影响较大的假设认为，人类的语言是从动物的体势动作演化而来的[4]。猩猩虽然没有类似人类的口头语言，却有着丰富的体势语。同时，人类的手势语与口头语言和书面语言一样，也具有丰富的语法结构和完善的交流功能。早期接触手势语的儿童能够像获得口语一样毫不费力的获得手势语。虽然猩猩的脑中没有专门控制发声行为的部位，但是对体势动作的控制却非常精确和完善。特别是猩猩大脑中的 F5 区与人脑的布罗卡区相似，都是控制体势动作的关键部位，刺激该部位会对其体势动作造成干扰。近年

来的研究还发现，镜像神经元不仅存在于猩猩的 F5 区，也存在于人脑的布罗卡区。这种神经元可能与动物和人类的模仿行为有直接关系。人感知其他人说出的表示工具的名词或使用工具的动词时，也会激活与说出该名词或动词有关的脑区。所有这些证据都提示，语言可能起源于动物的体势动作。但体势动作和有声语言的关系是什么？是从体势动作演化为有声语言，还是两者并存？有声语言如何成为人类语言的主要形态？这又是一个科学难题。目前研究者提供了几种解释。例如，有声语言实际上也是由肌肉和骨骼的相互协调来完成的，体势动作与有声语言之间不存在无法逾越的障碍。而且，通过声音传递信息能够解放双手以便从事诸如搬运和制造工具之类的工作。但这些解释还停留在猜想阶段，缺少有力的证据支持。因此，语言如何出现于人脑的问题仍有待解决。

研究语言进化的一种经验途径就是将现存的非人类灵长动物和人类的交往行为的神经生物学基础进行比较。前面说过，弓形束是连接颞叶与额叶的一条重要的神经纤维束，与语言功能有密切关系。研究者通过比较人类、猩猩和恒河猴的皮层连接发现，非人类的灵长类动物没有或只有较小的弓形束—颞叶投射，而人类左半球的额叶皮层通过弓形束与颞中回和颞上回（威尔尼克区的腹侧和前端）有很强的连接，人脑的这种特异性可能与语言的进化有关[5]。研究者还发现，人脑的颞上沟前部具有一个“voice”区，它处理人的语音，而不是其他动物的声音或自然界的声音。恒河猴和人类一样，也具有对本物种声音敏感的 voice 区，但其解剖位置和人类有重要区别。恒河猴的 voice 区位于颞上沟，正好在侧沟的下面。这再次说明，与人类语音加工有关的神经连接可能是动物祖先的 voice 区的变异。人类 voice 区的神经元对共振峰敏感，而语音的共振峰恰好可以区别人类语音的各种特性[6]。以上这些研究为我们提供了重要的启示，通过人脑与动物脑在功能和结构上的系统比较研究，有可能找到语言起源的生物学基础。

从人类个体脑与语言的发育中寻找线索是研究语言起源的另一条可能的途径。遗憾的是，这种研究同样存在难以解决的困难。首先，语言能力在人类个体发育过程中出现的时间问题仍然存在争论。发展心理学的研究表明，儿童在 2～5 岁左右会经历一个语言发展的关键期或敏感期。在这个时期，不仅词汇量突然增加，而且语法能力突飞猛进[7]。这种现象很难用建立条件反射的机械学习机制来解释。如果儿童在这个关键期内由于某种原因没有接触到语言刺激，那么其语言能力会严重退化，其结果甚至是不可逆的。在语言发展关键期后回到人类社会的所谓“狼孩”和“猪孩”失去了正常的语言能力，就是很好的例证。一个人的语言系统何时打开，何时关闭？这与脑的进化史有什么关系？为什么关键期后的儿童甚至成人还具备语言学习的能力？这些问题也远未得到解决。其次，个体脑发育与语言发展之间的对应关系仍然没有确立。一方面，脑发育的研究表明，婴幼儿大脑的不同部位有不同的发育进程，其中初级视觉和听觉皮层发育较早，而与语言关系密切的前额叶后部

和颞叶部分在 2～6 岁左右发育迅速，前额叶的背侧则发育最晚[8]。那么，脑发育的这种先后模式与语言能力的发展是什么关系？二者是简单的先后关系、同步关系还是复杂的相互促进？有研究发现，脑功能和脑结构之间并不是简单的对应关系。脑结构的迅速发育不能直接得出脑功能也提高的结论。因此，语言能力发展和脑结构进化（发育）之间的关系极为复杂。目前由于技术和被试群体的限制，采用无创性脑成像技术考察儿童的脑功能仍然有困难。而近年来出现的基于近红外光学成像的静息态功能连接技术则为此类研究提供了可能性。

研究语言与脑进化的关系的另一个视角，可能是考察不同进化阶段的脑区与语言能力的关系。从系统发生和个体发育上看，脑结构有一个不断进化的过程。例如，按照进化时间的早晚，大脑皮质可分为古皮质（梨状叶）、旧皮质（边缘系统）和新皮质（大脑皮层）；小脑可以区分为古小脑（绒球小结叶），旧小脑（前、后叶的蚓部及后叶蚓部的后外侧部）和新小脑（小脑半球的大部分和部分蚓部）；基底节包括旧纹状体（苍白球）和新纹状体（尾状核和壳核）。研究发现，语言功能主要与大脑皮层有关，并且涉及大脑皮层的广泛部位。特别是，语言功能与脑前部和后部的功能整合密切相关[9]。这些发现提示在人类进化的某一个阶段，逐渐成熟的人脑为语言的诞生准备了充分的条件。对这些脑结构的研究可能有利于揭示语言出现后它在人脑中的工作方式。在语言产出和理解中，左右脑的关系也是一个重要的科学问题。过去认为，语言主要是左半球的功能，右半球是个“哑”半球，在语言中不起重要作用。而现在越来越多的研究表明，右半球在语言理解和产生中也有重要作用。语言信息可能先在右半球进行加工，然后才到达左半球；左半球对词汇信息敏感，而右半球对句法信息敏感；左半球进行分析性加工，而右半球进行整体性加工。但在脑和语言的进化过程中，左、右半球为什么会出现分工？两半球在语言加工中究竟有什么关系？这些问题也没有真正解决。此外，最近的一些研究表明，处于早期进化阶段的脑结构，如苍白球、尾核，以及壳核，可能与语言之间有着更为密切的关系[10]。首先，这些脑结构的损伤必然会导致语言障碍，而大脑皮层的损伤却不一定。其次，这些脑结构并不与语言的某一个特定方面相关，而是涉及语言加工的多个方面，它们对大脑皮层加工语言的脑区发挥着广泛而重要的调节和控制作用。因此，进化时间较早的脑结构可能为我们提供语言诞生之前和诞生过程中的一些信息。不过，如何利用这些脑区的特点来揭示脑与语言的关系问题，仍然有待解决。

关于语言障碍的神经基础及其康复机制的考察，也能够为语言与脑的进化的关系提供线索。脑的进化过程中可能会出现一些异常，某些进化过程中的缺陷可能会通过遗传保留下来，并以基因表达的形式对现代人类的语言能力产生影响。例如，KE 家族的很多成员都受到语言障碍的困扰，基因 *FOXP 2* 的变异是造成这个家族语言缺陷的首因[11]。研究还发现，这个基因的异常与很多语言障碍有关，如口吃

和阅读困难。这两种障碍都是不分种族、地域和文化而普遍存在的。研究表明，基因 *FOXP 2* 的表达使基底神经节的突触可塑性得到增强，并增加树突之间的连接[12]，从而对语言加工和语言学习产生广泛而重要的影响。因此，基因 *FOXP 2* 可能在语言形成和发展过程中发挥了重要作用。但是，确定语言障碍与基因的关系有很多困难，不仅需要从大量的基因库中寻找，而且还要与复杂的语言行为建立联系。因此，仍需继续进行大量的研究。

参 考 文 献

[1] Broca P. Remarques sur le siége de la faculté du langage articulé，suivies d'une observation d'aphémie（perte de la parole）. Bulletin de la Société Anatomique de Paris，1861，6：330-357
[2] Wernicke C. Der Aphasische Symptomencomplex. Breslau：Cohn & Weigert，1874
[3] Jürgens U. Neural pathways underlying vocal control. Neurosci Biobehav Rev，2002，26（2）：235-258
[4] Lieberman P. Toward an evolutionary biology of language. Belknap Press，2006
[5] Rilling J K，Glasser M F，Preuss T M，et al. The evolution of the arcuate fasciculus revealed with comparative DTI. Nat Neurosci，2008，11：426-428
[6] Petkov C I，Kayser C，Steudel T，et al. A voice region in the monkey brain. Nat Neurosci，2008，11：367-374
[7] Hoff E，Shatz M. Blackwell handbook of language development. Oxford，U. K.：Blackwell Publishing Ltd，2006
[8] Paterson SJ，Heim S，Friedman JT，et al. Development of structure and function in the infant brain：implications for cognition，language and social behaviour. Neurosci Biobehav Rev，2006，30（8）：1087-1105
[9] Hickok G. The functional neuroanatomy of language. Phys Life Rev，2009，6（3）：121-143
[10] Alm PA. Stuttering，emotions，and heart rate during anticipatory anxiety：a critical review. J Fluency Disord，2004，29（2）：123-133
[11] Liegeois F，Baldeweg T，Connelly A，et al. Language fMRI abnormalities associated with FOXP2 gene mutation. Nat Neurosci，2003，6：1230-1237
[12] Lieberman P. *FOXP*2 and human cognition. Cell，2009，137：800-802

撰稿人： 彭聃龄　卢春明　丁国盛　刘　丽
北京师范大学
审稿人： 何　成　郑　平

人类怎样调控自己的情绪

How to Regulate Human's Emotion

柏拉图把人的心灵划分为理性、意志、情感三个部分，认为理性是人性中最高级的。但事实上，是情感让生活变得五彩斑斓，缺少情感的生活仿佛世界失去了色彩。千百年来，人类一直在试图驾驭情绪，争取在理智与情感的交锋中做出英明的决策。此外，情绪调控在心理学和认知神经科学中也是非常令人关注的话题。

一直以来，对于情绪（emotion）并没有十分确切的定义。目前一般认为，情绪是瞬息万变的心理与生理现象，反应了机体对不断变化的环境所采取的适应模式。从心理学的层面来说，情绪是对客观事物的态度体验和行为反应，为人类和动物所共有。这个概念主要包括三个方面的内容：生理唤醒、主观体验（如喜悦、悲伤和愤怒等）和外在表现（面部表情、身体姿态、动作等）[1]。广义的情绪还包括情感（affect，affection，feeling，又称感情），但情感是人类特有的与社会性需要满足与否相联系的心理活动，具有较强的稳定性、深刻性和持久性，是构成个性心理品质的稳定成分，较高级的社会性情感包括道德感、理智感和美感。在此基础上，情绪调节是指对情绪进行监控和调节，使心理体验、行为表达和生理反应发生改变以适应个体和社会生活需要的过程。

在情绪调节的研究中，Gross 提出的情绪调节过程模型具有一定影响。这一模型把情绪调节过程划分为 5 个阶段，分别是情境选择、情境修正、注意分配、认知改变和反应调整[2]。其中前 4 个阶段发生在外显的情绪行为之前，被认为是针对情绪产生原因的调节。在这个过程中，人们可以选择是否面对某种情境，是否采取某种行动改变情境，以及调节注意分配[3]和改变对情境的认知来影响情绪产生的过程，从而改变最终的情绪结果。而反应调整发生在情绪产生之后，当环境条件使人们不能直白地展露原本的情感时，人们需要从面部表情、身体姿势、语言和行为等方面调整外在反应以适应环境需要。一般认为，情绪产生过程中的调节，尤其是认知重评，可以有效地降低主观情绪体验、生理反应和行为表达，消耗的认知资源也较少，而且不会破坏社会沟通和互动。而反应调整，例如情绪表达抑制虽然减少了外在表达，但主观体验和生理反应并不会随之减弱，而且由于自然的行为反应受到抑制，将给人际沟通带来障碍。

但是，也应该看到，情绪调节受到多种因素的影响，某些规律可能只在部分群体中适用。例如，Butler 等[4]分别观察持有西方和亚洲文化价值观的美国人，结果发现持西方文化价值观者情绪抑制频率较低，抑制行为在这一群体中会引起较大的

负性情绪体验和敌意反应，从而影响社交活动的顺利进行。而持亚洲文化价值观的美国人并不会因为表达抑制而感觉到社交应答性减少，也较少体验到负性情绪。这表明情绪抑制的社会效果可能受到文化价值观的调控，也提示我们在开展情绪调节研究时，应该充分考虑到各类型个体在情绪调节上可能存在的差异，恰当地评价情绪调节策略的有效性和适应性。

除了上述社会文化特征外，研究者们还从个体发展、个性特质、临床病理特征等方面入手对不同类型个体的情绪调节特点开展了广泛的研究。例如，对于情绪调节能力的发展，比较了年轻人、中年人和老年人三组被试，发现在对积极、消极和中性图片的回忆与再认中，消极图片的回忆与再认数量相对于积极和中性图片呈现出随年龄下降的趋势，这可能与老年人倾向于回避惊险的和不良的刺激，同时社会经验更丰富，情绪调节技巧更加纯熟有关[5]。情绪反思是一种关注自己的情绪反应并反复思考引起情绪的情境或事件的习惯性反应。有人探讨了情绪反思特质与情绪调节的关系[6]，研究中高反思特质的被试被要求观看消极图片，并运用认知重评的方法减弱情绪反应。结果发现，当他们进行减弱调节时，大脑的扣带前回（ACC）、腹内侧前额叶和杏仁核的激活出现了明显下降，表明在有指导语要求时，反思倾向是可以被抑制的。表明勤于反思的特点可能有助于学习认知重评的调节方式，通过训练，人们的情绪调节能力可以得到提高。Gillath 等[7]关注了在成年人中依恋倾向与情绪调节的关系。发现依恋焦虑程度较高的被试在思考消极事件时颞叶前部、海马和 ACC 都有较大激活，而执行情绪调节功能的眶额皮层（OFC）激活较低，提示高焦虑者对情感丢失性事件的反应较为强烈。当执行情绪抑制任务时，依恋回避倾向较低者的扣带回激活有较大下降，而高回避个体无明显下降，表明他们的抑制活动可能不够有效。

情绪障碍患者的情绪调节问题也是研究者们十分感兴趣的课题。例如，重型抑郁症患者存在减弱消极情绪方面的障碍[8]，研究显示这可能是由于其右半球前额叶的异常活跃，而在正常对照组，进行消极情绪减弱调节时呈现的是左侧化激活模式。此外，对照组运用认知重评进行情绪调节时，左侧额下回（LIFG）与杏仁核的激活是负相关关系，并经由腹内侧前额叶（VMPFC）介导，也就是说，进行情绪调节时，对照组被试的 LIFG 激活增强，并引起 VMPFC 活动增强，从而对杏仁核的活动进行抑制，使情绪反应减弱。而在抑郁症患者中，VMPFC 的介导作用出现异常，它与杏仁核的激活呈现正相关关系，不能有效地抑制杏仁核的活动，因而抑郁症患者不能很好地调节消极情绪（图 1）。Monk 等[9]关注了患有广泛性焦虑障碍（GAD）的青少年（11～15 岁）的情绪调节能力，结果发现焦虑者在消极条件下比中性条件有更大的杏仁核激活，而对照组在两不同条件下激活差异不大，焦虑分数与杏仁核激活程度成正比。功能连接分析表明，所有被试腹外侧前额叶与杏仁核都存在功能联结关系，二者为负相关，但 GAD 患者这种联结较弱，这可能导致了他们的情绪调节能力弱化。

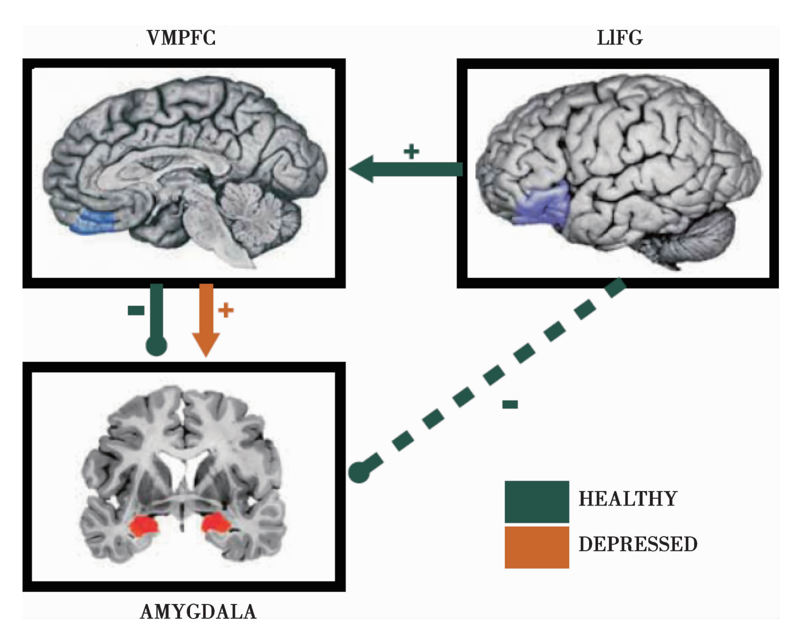


图 1 情绪调控通过前额叶与杏仁核的相互作用来实现，抑郁症患者在此神经机制上存在异常（Johnstone et al. 2007）

情绪调控的研究采用了多种观测手段，如主观体验的自我报告，外在行为包括表情、姿态等的评估，心率、呼吸、血压、皮肤电、迷走神经张力等生理指标的测量等。近年来，脑科学技术的运用使情绪调控研究发展迅猛，关于情绪调控的神经基础也初见端倪。Ochsner 等[10]将情绪产生与调节的脑机制总结为自下而上和自上而下两大系统，通过系统间的相互作用最终实现对情绪的调控。自下而上系统包括知觉系统和情感评价系统。知觉系统负责对来自视觉、听觉等通道的情绪信息进行知觉加工，主要由大脑的枕、颞、顶区域执行这一功能。知觉信息进一步可以传递到由杏仁核、基底神经节等构成的情感评价系统，获得相应的情绪意义并引发情绪反应。在自下而上思路中，情绪被看作是对具有内在情绪意义的刺激事件的反应，是一个材料驱动的过程。而在自上而下过程中，前额叶、扣带前回等脑结构可以预期或“制造”出情绪反应，呈现出概念驱动的情绪产生过程。同时，自上而下系统在接收到自下而上系统传递来的知觉或情绪信息后，也可以对下位情绪系统的活动进行调节，从而改变最终的情绪反应。其中，背侧前额叶等结构负责通过认知重评、信念等手段调节情绪，而眶额皮层等结构在刺激-强化连接的消退中发挥作用，通过重新表征行为与情绪后果之间的联系来实现情绪调节的目的。简而言之，以前额叶为代表的皮层结构和与杏仁核为代表的皮层下结构之间的相互作用，是情绪调控的神经基础。

总体来说，情绪调控的研究内容非常广泛，技术手段多样，也已取得一定的研

究成果。但如果要回答人类如何调控情绪，其相应机制是什么，研究才刚刚开始。在概念上，如何界定情绪，如何区分情绪产生与情绪调节过程，是研究者们一直在思考和探讨的理论问题。在研究方法上，怎样诱发出特定的情绪，怎样证实情绪调节过程确实存在，如何进行合理、准确、可靠的测量，需要不断地实践摸索。从现有研究来看，所涉及面虽广，但深入性和系统性不够，尚不足以构成深厚而稳定的理论基础以指导实践。目前，在情绪调控的认知神经机制、遗传与环境因素的影响作用、情绪调控能力的毕生发展、理论与临床实践的衔接等方面，还有大量工作要做。

参 考 文 献

［1］ 罗跃嘉，罗敏敏 . 情绪的认知理论与神经基础，见：韩济生. 神经科学. 第三版. 北京：北京大学医学出版社，2009，887-903

［2］ Gross J J. The emerging field of emotion regulation：an integrative review. Review of General Psychology，1998，2（3）：271-299

［3］ Luo W B，Feng W F，He W Q，et al. Three stages of facial expression processing：ERP study with rapid serial visual presentation. Neuroimage，2010，49（2）：1857-1867

［4］ Butler E A，Lee T L，Gross J J. Emotion regulation and culture：Are the social consequences of emotion suppression culture-specific? Emotion，2007，7：30-48

［5］ Charles S T，Mather M，Carstensen L L. Aging and emotional memory：The forgettable nature of negative images for older adults. J Exp Psychol General，2003，132（2）：310-324

［6］ Ray R D，Ochsner K N，Cooper J C，et al. Individual differences in trait rumination and the neural systems supporting cognitive reappraisal. Cogn. Affect. Behav Neurosci，2005，5（2）：156-168

［7］ Gillath O，Bunge S A，Shaver P R，et al. Attachment-style differences in the ability to suppress negative thoughts：exploring the neural correlates. Neuroimage，2005，28（4）：835-847

［8］ Johnstone T，van Reekum C M，Urry H L，et al. Failure to regulate：counterproductive recruitment of top-down prefrontal-subcortical circuitry in major depression. J Neurosci，2007，27（33）：8877-8884

［9］ Monk C S，Telzer E H，Mogg K，et al. Amygdala and ventrolateral prefrontal cortex activation to masked angry faces in children and adolescents with generalized anxiety disorder. Archives of General Psychiatry，2008，65（5）：568-576

［10］ Ochsner K，Gross J J. The neural architecture of emotion regulation. In：J. J. Gross（Ed.），Handbook of Emotion Regulation. New York，USA：Guilford Press，2007，87-109

撰稿人： 黄宇霞　罗跃嘉

北京师范大学

审稿人： 郑　平　何　成

我们如何进行决策？

How Can We Make A Decision?

人们经常感叹，自己总要面对一边是海水一边是火焰的选择。孰取孰弃，是无尽的纠结，却也是伴随万物之灵的我们，乃至所有动物一生的亘古故事。由于抉择在生活中的普遍性和重要性，经济学家和生物学家都对这一基本认知行为具有浓厚的兴趣，试图理解其发生机制。有趣的是，经济学家和生物学家所关注的核心却有差别。经济学家想要了解的是如何完成一个“好的抉择”，他们试图探求的是如何使抉择的结果符合最优化的客观规律；而生物学家，特别是神经生物学家，关心的则是如果做出一个“抉择”，即抉择作为一个行为输出，其指令在神经系统是如何产生和传递，并外显于行为的，而并不在意这个抉择的结果会是“好”还是“坏”。

在经济学理论中，抉择行为的核心是效用和价值。从这一意义上理解抉择，即在不确定性条件下，通过估计各个冲突的选择项可能带来的收益和所要付出的代价，找到一个受益最大，代价最小的，并照此行动的过程[1]。而在生物学家看来，对于同一任务，存在差异的个人对于预期效用的估计不尽相同，所以可能采取具有个体特征的抉择策略，甚至由于存在个体认识能力上的偏差，大脑做出的抉择可能并不是最优的选项。但是无论抉择结果是“对”还是“错”，抉择行为的产生过程都是生物学家，特别是神经生物学家非常感兴趣的。

行为经济学预期理论的出现[2]，揭秘了人在不确定性条件下的决策如何偏离传统经济学理性原则的现象。由于条件的不确定性，人无法完全掌握当前环境的信息，所以就会根据一些主观判断来做出选择，往往带有系统性偏差。这里的偏差通常符合小数原则和可用原则。小数原则是指人总是有将小样本中某事件的概率推广到总体概率的倾向；可用原则是指人有将较高权重分配给突显度高的信息的倾向，这种主观意识在行为上往往会表现出胜者全拿的效应，所以通常经济抉择会表现出S形的抉择曲线（图1）。这种与传统经济学理性

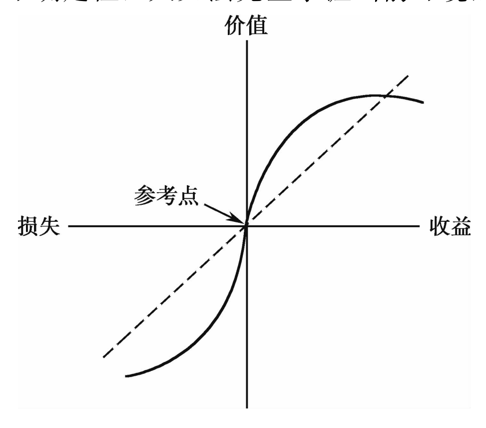


图1　非理性抉择中预期理论价值函数的S形曲线

原则背离的行为现象，困扰了经济学家们数十年，却有可能由神经生物学家来给出其生物学意义上的合理性，而这也正是当下被讨论的非常热烈的研究领域，即基于价值的S型抉择行为曲线产生的神经机制。

美国著名经济学家凡勃伦（T. Veblen）1898年曾说过："要正确地理解经济学的话，应该把它当作一个生物学的分支。"随着现代神经科学技术的发展，经济学正与神经科学逐渐交叉。研究脑对价值的理解、脑对损失和收益的感知，以及脑在决策中的活动过程，正逐渐吸引着经济学家的目光，从而产生了一个交叉科学——神经经济学的繁荣。事实上神经生物学对抉择问题的关注远在此之前。1848年，在美国佛蒙特州小镇卡文迪什的一次爆破事故中，铁路工人盖奇（P. Gage）的大脑前额叶受到严重损伤，但他幸运地活了下来，并且表面上看起来一切生理功能都正常。可奇怪的是，他却丧失了作为一个正常人的计划和抉择等高级认知能力。在20世纪90年代初，达马西奥（A. Damasio）及其同事对盖奇的脑损伤部位进行了重构，结果显示，盖奇大脑的腹中侧额叶受到损伤，其部位包含了左右两侧的前额叶部分（图2）。此后，他还发现了若干具有与盖奇相似的行为能力缺陷的病例，他们共同的特征是智力正常，能分别完成各种单独任务，但如果将一些任务组合起来，要求其按某一顺序完成，则无法做到，表现出计划任务执行能力出现障碍。而这些病人也都与盖奇有一个共同的病理特征，即他们的大脑前额叶，特别是腹中侧额叶存在损伤。由此，达马西奥猜想腹中侧前额叶皮层在抉择行为中的作用可能是整合各种感知信息和情绪反应，并在此基础上提出了"躯体印记假说"[3]：在人的一生当中，各种输入前额叶的信息都会与当时的情绪反应相关联、整合，这些信息包括躯体感觉、对外部的认知等，所以当人们遇到类似环境时，或有类似的情绪反应时，就可调动原先的抉择标记，快速做出应有的反应，从而使抉择时间缩短。前额叶缺损的病人，无法将感觉信息与情绪反应相联系，无法对前景进行预估，所以每次遇到同一环境时，都要重新做出决定，因而效率极低，表现出抉择障碍。达马西奥及其同事设计了一组赌博实验，在被试者进行行为检测的同时记录其皮肤电反应，作为躯体状态的表征。实验结果支持了他的观点。用同样或者类似的范式，他们发现杏仁核、丘脑、扣带回和中脑核团等脑结构也参与了这一情绪体验过程，并自此，揭开了神经生物学家争相寻找抉择相关脑区的热潮。

除了以病例为出发点或者结合功能核磁共振成像（fMRI）寻找抉择相关脑区的方法外，还有以纽森（W. Newsome）为代表的神经生理学家，采用的单细胞记录的方法，在脑中寻找"抉择神经元"。这些神经元的动作电位发放与抉择行为在时间上具有相关性，通过描述这些神经元的活动特性，有可能可以解释抉择行为发生的微观过程。




图 2　盖奇在事故中额叶受到了损伤

左：盖奇脑损伤部位的计算机重构图；右：前额叶皮层在大脑中的位置

从神经生物学的角度来说，每个抉择过程都包含下面三个子过程：①获取环境信息并产生可作为参考的方案（选择项）；②预估这些方案可能带来的收益或损失的值，或比较这些方案之间可能的收益或者损失的差值，找到最优解；③按照最优解的选择，做出相应的行为来实现。完成这样的一个过程，至少需要三个功能：外界信息感知和计算；收益/损失（奖励/惩罚）的评估；计划执行（按照决定的方案，做出相应的动作）。当然，每个功能还可更加细化成子功能，但这已接近于人们通常对大脑功能的划分，即感知系统、价值评估系统和运动系统。

认知神经生物学家研究抉择的目的，就是要搞清楚理性和欲望等智力的组成要素是怎样产生、作用并最终导致抉择的行动的。把抉择的过程细分之后，每个子过程都可用单一的功能来描述，或者某一类神经元就可完成，从而可用电生理方法记录其工作方式，使得对抉择这种复杂行为的研究变得可操作。科学家以灵长类动物为研究对象，把抉择过程简化成感知决定，用冲突的线索作为感觉刺激输入，训练猴子按照某个简单的既定策略做出决定，并以简单的行为输出作为报告，在此基础上用单细胞记录的方法得到猴子的大脑电活动信息，最先在视觉相关的高级脑区，如额眼区（FEF）、中颞叶区（MT）发现了与视觉感知抉择相关的神经元，后又在外侧内顶叶皮层（LIP）找到了一类反映整合视觉刺激，并能指导运动输出的“抉择神经元”[4]（图 3）。外侧内顶叶皮层（LIP）是连接视觉和运动的皮层，皮层中的神经元在视觉运动方向判断实验中，在简单判断时没有反应，只有在复杂判断时才发放动作电位，且其发放的动作电位与随后的眼运动方向相关。同样的方法，在触知觉和运动相关皮层也记录到了抉择相关神经元。

尽管通过简化的视觉感知和运动控制的范式发现了视觉感知皮层、躯体感觉皮层和运动皮层在抉择时的反应，但这并非是经济学家所关心的脑关于抉择的功能。他们更关心的是经济抉择行为中对效用与价值的计算过程在脑中是如何体现的，而

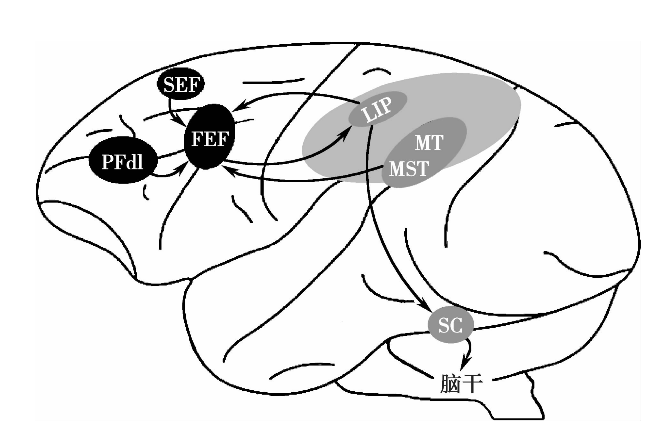


图 3　猴脑中与抉择相关的部分大脑皮层功能区

视觉信息进入大脑后经过高级视觉处理中枢（MT、MST、LIP 等）和更高级的额叶皮层（PFdl、FEF、SEF 等）的相互作用形成抉择指令，并交由运动处理中枢（SC 等）发起运动执行抉择行为。PFdl：腹外侧前额叶皮层；SEF：辅助眼区；SC：上丘；MST：内侧颞叶上部

这一问题，直到最近两年才有相关的生理实验报道。哈佛医学院的阿萨德（J. Assad）研究组发现眶额叶皮层（OFC）存在一类神经元，在复杂的经济抉择中，编码了经济价值的信息。这类神经元所发放的动作电位频率的变化与视觉刺激出现的位置、形式和个体的偏好无关，而仅反映了视觉刺激所代表的奖励的多少[5]。华盛顿大学的沙德伦（M. Shadlen）研究组则发现，顶叶皮层（PC）的部分神经元在经济抉择中编码了视觉刺激所偶联的奖励可能出现的概率[6]。

当借鉴了强化学习与多巴胺能神经系统关系的研究之后，一种被称为基于价值的抉择理论逐渐得到关注。多巴胺能神经系统在认知行为的神经过程中起着关键作用。在灵长类中，有关中脑腹侧被盖区多巴胺能神经元的短时程和长时程两种发放形式在 21 世纪初被舒尔茨（W. Schultz）及其同事发现[7]，并与预测奖励、检测奖励误差的功能相关。其中有人认为多巴胺能神经元短时程发放在强化学习中起关键作用，而长时程的发放形式则被认为在抉择等更高级的认知活动中发挥功能。那么，多巴胺能神经元是不是就是行为动机的来源，在生理上它又是怎样实现这一功能的？这是严肃而又有趣的问题。由于中脑多巴胺能神经元的发放与奖励的预测相关，并且这些神经元发出纤维支配大脑中广大的其他脑区，所以被认为多巴胺能神经元可以编码前述经济学抉择中所强调的价值关系，并把这一信号发送给其他的执行单元，从而实现基于价值的选择[8]。但是这一假说仍然需要更多的实验证据，并且多巴胺能神经元的发放对刺激的选择性又是从何而来，它又是如何传递给其他脑区，并在最后的行为中体现出来等等，这些问题仍有待解决。

当了解了抉择行为所必需的脑区和在抉择行为发生过程中有相关发放的神经结

构之后，人们有了更高的求知要求。现在人们已经不再简单的问哪里是抉择脑区的问题了，而是关心在复杂的多重抉择和连续抉择中，众多与抉择相关的脑区的协作关系是怎么样的，信息流向是怎样的顺序（图 4）。

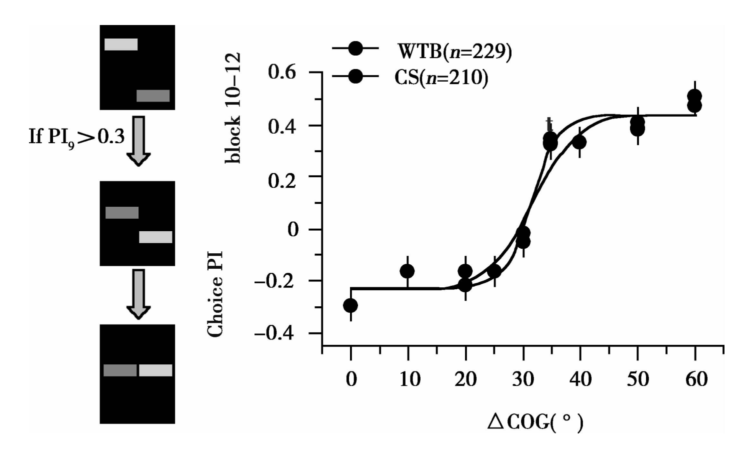


图 4　野生型果蝇 WTB 和 CS 的抉择曲线[9]

在一个标准的 24min 的“颜色/位置”的两难抉择范式中，果蝇可同时学习识别颜色和位置两种视觉线索，而记忆又可以分别用单个线索来提取（左图）。但是在抉择阶段，改变图形的颜色和形状之间的搭配规则，使果蝇陷入两难局面。果蝇必须评估或计算在颜色和位置之间的相对权重，做出避开或飞向某个条带图形的选择，以便趋利避害。我们将果蝇在抉择阶段的偏好指数 PI 的平均值作为抉择指数。抉择指数作为两种颜色（绿与蓝）水平条纹的沿垂直方向的角距离（以果蝇为出发点的仰角）的函数是可以用 S 型逼近的非线性函数（右图）。WTB、CS 为两种野生型果蝇；△COG 为图形目标之间的重心差，是果蝇识别的线索之一

一言以概之，科学家最终的目标是要了解如日常行为般的复杂抉择行为过程中，神经系统传递的信号是什么，各代表什么问题。再如价值的概念是怎样表征的，趋利避害的选择是怎样发生的，抉择的神经计算原则是否普适等。我们希望人类能在早日登上认识探索之巅，但不得不承认的是，目前我们还仅仅是在山脚而已。

参 考 文 献

［1］ 张柯，奚望，郭爱克. 抉择：神经生物学与经济学的共同界面 . 科学，2008，60（3）：5-9

［2］ Kahneman D，Tversky A. Prospecttheory：an analysis of decision under risk. Econometrica，1979，47：263

［3］ Damasio A R. The somatic marker hypothesis and the possible functions of the prefrontal cortex. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci，1996，351（1346）：1413

［4］ Platt M L. Neural correlates of decisions. Curr Opin Neurobiol，2002，12（2）：141

［5］ Padoa-Schioppa C，Assad J A. Neurons in the orbitofrontal cortex encode economic value. Nature，2006，441（7090）：223
［6］ Yang T，Shadlen M N. Probabilistic reasoning by neurons. Nature，2007，447（7148）：1075
［7］ Schultz W. Multiple dopamine functions at different time courses. Annu Rev Neurosci，2007，30：259
［8］ Tang S M，Guo A K. Choice behavior of *Drosophila* facing contradictory visual cues. Science，2001，294：1543
［9］ Zhang K，Guo J Z，Peng Y Q，et al. Dopamine-mushroom body circuit regulates saliency-based decision-making in *Drosophila*. Science，2007，316（5833）：1901

撰稿人：张　柯　郭爱克
中国科学院神经科学研究所
审稿人：郑　平　何　成

意识和智慧的生物学基础

Biological of Cousciousness and Intelligence

人类的意识和智慧作为一种复杂的生命现象，长期以来受到人们的关注。然而究竟什么是意识和智慧，以及它们是如何产生的等诸多问题却一直困扰着我们。意识和智慧的起源和本质是自然界最为重大的难题之一。在不同的学科领域，人们对意识和智慧的理解也不尽相同[1-3]。在心理学领域，认为意识是对外部环境和自身心理活动，如感觉、知觉、注意、记忆、思维等的觉知和体验。在临床医学领域，意识通常指的是人对周围环境及自身的认识和反应能力，这可以分为意识清楚、意识模糊、昏睡、昏迷和植物人状态等不同的意识水平。认知神经科学领域的意识指的是对外部世界、自己的身体以及心理过程体验的整合。智慧与意识紧密关联，它可以被概括为人在进行认知、思维、判断、语言、记忆、想像等内在高级活动时的能力，可以说智慧是意识活动的一种反映。尽管对意识和智慧的理解千差万别，但科学家在多年的研究基础上一致认为，意识和智慧的物质基础是脑。因此，对于人脑工作机理的研究和认识的程度将直接决定如何理解意识相关的精神活动和主观体验进而揭示意识和智慧的奥秘。

大脑是自然界中最为复杂的系统之一。据估计，一个成年人的大脑约有 10^{11} 个神经元细胞，这些数量巨大的神经元通过大约 10^{15} 个突触互相连接，形成了一个极其复杂的网络。在这个网络中，神经元的自发活动以及受外界刺激而产生的兴奋过程和抑制过程通过突触传递到其他相关的神经元，使得各神经元之间、神经系统各部分之间的神经活动能够相互配合、相互协调进行工作。越来越多的证据表明大脑的功能活动，哪怕是最简单的一项活动都是由神经元信号在数百万亿突触连接起来的数千亿个神经元构成的网络上传递交互进行的，而脑的不同神经单位（如神经细胞、神经元集束和脑区等）的结构特征决定并限制了大脑信息传递的方式以及大脑在处理各种功能活动时的效率[4]。可以说，这个复杂而庞大的脑网络系统是人类能够高效地进行信息处理和认知表达的生物学基础。因此对意识和智慧的脑机制研究是理解其神经生物学基础的重要突破口。

近年来，随着现代科学技术的突飞猛进，脑成像技术，如功能磁共振成像（fMRI）、扩散磁共振成像（dMRI）、正电子断层扫描（PET）、脑电图（EEG）、事件相关电位（ERP）和脑磁图（MEG）等，已经能够无损伤地观察人脑的功能活动，因而被广泛地应用于人类意识和智慧研究。意识相关研究通常可以分为意识状态和意识内容的研究[2]。意识状态研究是指通过探索不同的意识状态下（清醒、

睡眠、昏迷、植物人状态等）以及不同的意识状态之间转换的规律，理解意识的神经生物学基础。比如，通过 ERP 分析，研究者发现失匹配负波与脑的自动加工有关，并且在注意与非注意上相互独立，这些为理解意识处理以及意识与注意的关系提供了重要的实验证据[5]。通过 EEG 分析，研究者发现了快速眼动睡眠和慢波睡眠现象[1,2]。通过脑磁图分析，研究者探索了人脑从清醒的静息状态到运动任务状态下脑活动的变化，并发现一些运动相关脑区在不同意识状态间的调控[2]。对意识内容的研究指的是探求那些不同的意识状态下以及不同的意识状态转换间相关的神经单位（神经元、神经元集束或者脑区）及其之间的关联。例如，已经发现人脑的视觉皮层包含着许多不同的子分区，这些小的分区相互联系，构成了一个复杂的视觉系统，这与人们的视觉意识具有密切的关系[2]。功能神经影像研究发现在有意识的休息状态（清醒）下，大脑的许多脑区（如额叶内侧、扣带回后部和楔前叶区域）表现出非常活跃的自发神经活动，这些活动与人们的意识、记忆、冥想等具有密切的关联。在某些意识相关障碍（如植物人状态）的研究中，这些脑区表现出显著减弱的活动[6]。研究也发现，这些脑区的自发神经活动能够预测人的智力水平[7]。最近，MRI 研究发现[8,9]，额叶内侧、扣带回后部和楔前叶区域共同承担着人脑内部不同的区域之间的信息交流作用，是人脑结构网络的枢纽（图 1），这可能表明了人脑的意识和智慧现象具有神经解剖基础。通过把人类的认知现象和大脑的神经活动或者结构特征联系起来，这些新的实验技术为理解意识和智慧的生物学基础提供了重要的实验证据。

尽管目前的脑成像技术及其应用为理解人类的意识和智慧提供了重要的技术手段，然而意识和智慧的脑机制研究也面临着许多的挑战。比如，意识的活动多种多样，不同的意识状态和精神现象在脑机制上具有多大的相似性和特异性？在不同的意识活动间、从有意识的认知过程到无意识的过程转化中，人脑的网络是如何进行调控的？人脑的意识和智慧是局限于某些特定的脑区集合还是在全局上的一个整合？如果是前者，那么负责意识活动和智慧的关键脑区和通路在哪里以及它们是如何控制和协调相关网络的？如果是后者，大脑又是如何在全局上整合如此多的神经元、神经元集束或者脑区以产生意识和智慧现象的？另一个令人感兴趣的问题是人脑的意识活动和智慧是否真的存在着解剖基础？也就是说人脑在产生意识和智慧现象时，这种功能活动是否与脑的结构特征紧密相连？越来越多的研究表明通过学习与训练能够改变人脑的结构和功能——脑的可塑性，这些训练和学习是否也能够改善人类的意识和智慧呢？许多神经精神疾病，如阿尔茨海默氏症、儿童多动症、自闭症、植物人状态等表现出意识和智慧活动的降低，其生物学基础也是需要密切关注的研究课题。最近，有学者提出“人脑连接组学”（human connectomics）的概念[10]，可能会唤起不同领域的广大科研工作者对脑连接网络的重视。人脑连接组学试图从宏观（大脑脑区）到微观（单个神经元）的各个层次上，全面而精细地刻

画了人类大脑从总体到个体水平的结构和功能网络图谱，并进一步挖掘该网络的连接规律，这种观念上的变革将为进一步深入地窥探意识和智慧现象的神经机制以及与之相关联的各种神经精神疾病的发病机理等重要问题提供全新的视角。

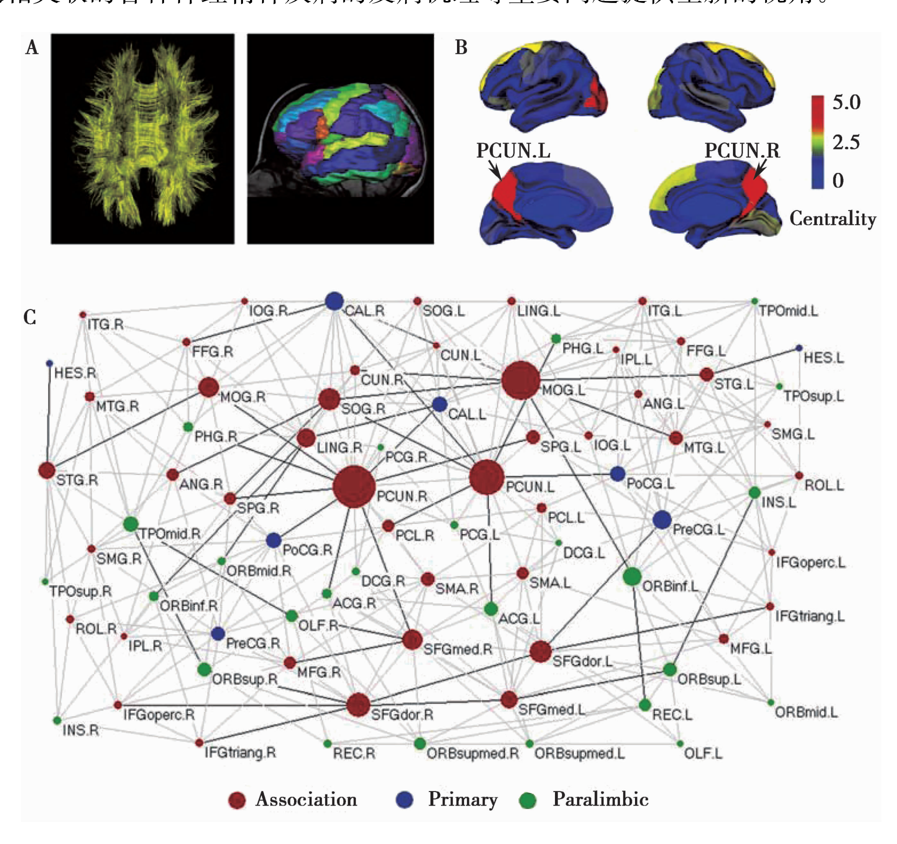


图 1　人脑结构连接网络的构建和图谱

A. 扩散磁共振图像能够被用来重建活体人脑的神经纤维通路；B. 楔前叶、额叶内侧区域为人脑结构网络的枢纽；C. 人脑结构连接网络图谱（Gong et al. 2009）

最后，在意识和智慧的脑机制研究中，相关的方法论也需要不断地完善和发展，这包括提高神经成像技术的时间和空间分辨率，改进高性能计算技术以及建立符合意识加工规律的脑网络数学模型等。随着心理科学、认知科学、神经生物学、神经病学、信息科学、计算神经科学等学科的发展，人们对意识和智慧现象的认识也逐渐加深，对大脑的结构和功能也将会有更进一步的了解，这些将会为揭示意识和智慧的奥秘提供新的研究思路和方法。

参 考 文 献

［1］ 罗跃嘉，魏景汉．认知神经科学与意识研究．见：汪云九，杨玉芳等，意识与大脑．北

京：人民出版社，2003：90

[2] 程邦胜，唐孝威．意识问题的研究与展望．自然科学进展，2004，3：241-248

[3] Crick F，Koch C. Consciousness and neuroscience. Cereb Cortex，1998，8：97-107

[4] Bullmore E，Sporns O. Complex brain networks：graph theoretical analysis of structural and functional systems. Nat Rev Neurosci，2009，10：186-198

[5] Luo Y J，Wei J H. Cross-modal selective attention to visual and auditory stimuli modulates endogenous ERP components，Brain Research，1999，842：30-38

[6] Fox M D，Raichle M E. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. Nat Rev Neurosci，2007，8：700-711

[7] Van den Heuvel M P，Stam C J，Kahn R S，et al. Efficiency of functional brain networks and intellectual performance. J Neurosci，2009，29：7619-7624

[8] Gong G，He Y，Concha L，et al. Mapping anatomical connectivity patterns of human cerebral cortex using *in vivo* diffusion tensor imaging tractography. Cereb Cortex，2009，19：524-536

[9] He Y，Chen Z，Evans A. Small-world anatomical networks in the human brain revealed by cortical thickness from MRI. Cereb Cortex，2007，17：2407-2419

[10] Sporns O，Tononi G，Kotter R. The human connectome：A structural description of the human brain. PLoS Comput Biol.，2005，1：e42

撰稿人： 贺　永　罗跃嘉

北京师范大学

审稿人： 郑　平　何　成

揭示智力障碍的分子遗传学基础

Elucidating the Molecular and Genetic Mechanisms of Mental Retardation

智力障碍（智障）又称智力低下、智力残疾或精神发育迟滞（mental retardation），是指18岁以前（发育过程中）出现的认知功能低下（智商<70，而正常人的智商约为100）和社会适应能力不足，是一组严重危害儿童青少年身心健康的神经精神疾病。智障在世界范围内的患病率约为1%～3%。1987年据我国29省、市158万人口的智障调查结果显示，智障的患病率为1.27%[1]。2000年我国的抽样调查报告显示，我国0～6岁儿童智障现患率为0.931%（年均发现率1.331‰）。依据上述两项全国性智障调查结果估计，我国现有的智障总人数应在1000万人以上。

智障不仅给患儿和家庭造成终生的痛苦，同时也为家庭和社会带来了沉重的经济负担。1994年荷兰对各类疾病在整个医疗保健开支中所占比例进行了调查，智障所需的费用占整个医疗开支的9%，列居首位[2]。美国疾病控制中心2003年资料显示，每位智障患者一生需要100万美元用于医疗保健和其他社会支持。造成智障的病因极其复杂，既有内因又有外因。内因主要是指染色体异常和基因突变。外因包括外源性感染、中毒、外伤、缺氧、营养不良，以及心理损伤、社会文化环境不良等因素均可造成智障。随着生活水平的提高和医疗保健措施的完善，有效控制了因为各种外在因素所造成的智障，遗传因素在病因构成中日显突出。欧美大型医学遗传中心的数据显示约2/3的智障是由遗传因素所致，包括各类染色体异常、单基因或多基因异常等[3]。

对智障的遗传病因和发生机制的研究不仅具有重要的医学和社会意义，而且还能促进脑科学和认知科学等前沿学科的发展。目前已有300多个智障致病基因被发现。这些基因所编码的蛋白质主要参与细胞信号传导、转录调控、细胞黏附、细胞周期调控，以及DNA/RNA/蛋白质的合成与降解等。它们的功能虽复杂多样，但大多都通过不同的分子通路在神经元迁移、神经轴突树突发育、突触形成、突触可塑性和学习记忆等生物学过程中发挥重要作用。然而这些智障基因在神经系统内的正常生理功能，以及突变后是如何导致神经细胞功能异常，并最终导致大脑发育和高级认知功能紊乱，目前知道的非常有限。在已发现的300多个智障基因中，有30多个突变后导致非综合征性智障（non-syndromic mental retardation，NSMR）。这些导致非综合征性智障的基因因其只影响大脑的认知而不影响其他组织器官的功

能而备受认知神经科学家的关注。有人认为，对 NSMR 基因的研究将开辟人脑认知功能分子机制研究的新天地。

染色体异常导致的智障

染色体异常是智障最常见的遗传病因，在患者中的检出率约为 10%。造成智障的染色体异常包括染色体数目和结构异常两大类。

1. 染色体数目异常

正常人的体细胞中染色体总数为 46 条，正常男性的核型为 46,XY，正常女性的核型为 46,XX。凡是常染色体不是 22 对，性染色体男性不为 XY，女性不为 XX，均称为染色体数目异常。常染色体数目异常是引起智障的主要原因，从原理上讲 22 对常染色体都有可能发生异常，但由于常染色体数目异常常存在多个基因缺陷，严重影响胚胎发育，多在胚胎期即死亡。而存活的智障患儿中，以唐氏综合征（先天愚型或 Down 综合征）最常见。1959 年 Lejeune 发现唐氏综合征是由第 21 号染色体的数目增加造成。流行病学调查表明，母亲的生育年龄与发病率有密切相关，高龄孕妇，特别是 40 岁以上者生育患儿的比例明显升高。因此，高龄孕妇需做产前诊断，以减少患儿的出生。

2. 染色体结构异常

染色体在电离辐射、化学物质等多种因素作用下发生断裂，若断裂染色体重接，形成重排染色体，则导致染色体结构异常。常染色体结构异常所致的智障比较常见的是猫叫综合征，此病由常染色体短臂部分缺失所致。本病在智障儿童中约占 1% ～1.5%。性染色体结构异常是由 X 或 Y 染色体结构异常引起的，这类病人表现为性发育异常，有些伴有智障，如先天性卵巢发育不全综合征。

单基因突变导致的智障

脆性 X 综合征是世界范围类最常见的由单基因突变导致的智障。1991 年世界上三个研究小组同时用不同的策略克隆到 X 染色体长臂末端脆性位点处的脆性 X 智力低下基因 *FMR 1* ，自此正式揭开单基因智障的研究序幕。早期致病基因的克隆主要是通过分析致病基因所在的染色体部位，在候选区域内进行突变筛查，最后找到发生变异的基因。致病基因的位置信息主要来自智障家系，家系成员的染色体在世代传递过程中不断发生同源交换，通过对家族中患者与正常成员的遗传标志进行对比分析，可以锁定致病基因的染色体区域。由于 X 染色体连锁智障大多为隐性遗传，女性携带者不受累或症状较轻，易将突变基因传递给后代，形成累及几代的智障大家系，遗传方式较易识别，因此在过去的近二十年间对 X 染色体连锁智障家系的致病基因研究取得了很大进展。目前已通过欧洲 X 染色体连锁智障协作组、美国 Greenwood 医学遗传中心和英国 Sanger Center 等多个国际间大型合作研

究，收集了几百个X染色体连锁智障家系，鉴定了215种不同类型，其中97种已定位了致病基因所在的染色体区域，82个智障基因已得到克隆[4]。

相比X染色体连锁智障，常染色体遗传的智障家系研究进展要慢得多。这是由于智障患者生育率低，显性患者难以将突变的基因传递给后代而形成大的发病家系。同时，常染色体智障的遗传异质性极强，推测很可能有一千多个基因与之有关，其中每一个基因可能只影响<1%的患者。目前常染色体隐性智障基因的克隆多通过近亲家系中纯合等位位点的扫描，但这样的家系在现代社会中已十分罕见。因此，与X染色体连锁的智障基因相比，只有很少数常染色体隐性遗传的智障致病基因被发现。迄今仅有8个常染色体隐性遗传的致病基因被克隆，还有上千个智障基因等待克隆与鉴定。

总之，单基因智障研究在近二十年间取得了令人鼓舞的进展，已克隆了300多个存在于常染色体和性染色体上与智障相关的基因。但另一方面，仍有至少70%左右的智障患者病因不明。数据库和文献查询表明，还有上千个未知智障基因有待发现和鉴定[5]。近年来，随着新一代高通量测序分析和基因组学等新技术的发展，为智障基因的鉴定带来了新的机遇。

如果某个基因是脑组织发育和正常功能所必需，当其发生突变时，就可能导致智障。如脆性X综合征是由*FMR 1*启动子区CGG重复序列异常扩增导致启动子过度甲基化而使*FMR 1*基因转录关闭，导致体内不表达其编码的蛋白质产物FMRP。FMRP是一种多结构域的mRNA结合蛋白，参与调控靶基因mRNA的转运、稳定性或翻译。在基因敲除小鼠中，mGluR（metabotropic glutamate receptor）由于失去FMRP的抑制性调控，活性明显增加而导致突触发育和功能异常[6]，这是导致脆性X综合征智障的重要发病机制之一。

多基因突变导致的智障

多基因遗传病受遗传和环境双重因素的影响，致病基因不是一个而是多个，多个基因之间没有显隐性的区别，呈共显性遗传现象，每个基因对性状形成的效应是微小的，多个微效基因累加形成一个明显的表型。受多基因控制的家族性智力低下患者，同胞姊妹之间智力低下的程度有很大不同，智商水平由患者所带致病基因的数目控制，致病基因越多智商水平越低。

线粒体基因突变导致的智障

线粒体是动物细胞核外唯一一个含有DNA的细胞器，线粒体基因涉及编码多种tRNA、rRNA及一些功能蛋白质。线粒体的主要功能是提供能量，如果功能不

足，则引起细胞病变或死亡。线粒体 DNA 的突变导致的脑肌病伴发高乳糖血症及卒中样发作（mitochondrial encephalomyopathy，lactic acidosis and stroke-like episodes，MELAS），肌阵挛性癫痫伴发碎红纤维（myoclonic epilepsy and ragged-red fibers，MERRF）和 Kearns-Sayre 综合征（KSS）都有程度不同的智力低下。MELAS 是由于线粒体 tRNA（Leu）基因在 3243 碱基处的点突变所致[7]。多数 MERRF 综合征病人是由于线粒体 tRNA（Lys）基因在 8334 碱基处的点突变，引起氧化磷酸化系统中复合酶Ⅰ和Ⅳ缺陷所致[8]。

智障给家庭和社会都带来巨大的心理和经济负担。如何通过建立先进的智障诊断平台，克隆智障新基因并解析智障基因的神经生物学功能，从而增加遗传咨询的准确性，提高智障的病因学诊断水平，及时进行产前干预，并为智障的药物干预和治疗提供新的候选靶点，这是值得研究的问题。

参 考 文 献

[1] 樊作澍．全国智力残疾的调查分析．中国康复，1992，7（2）：60-63

[2] Polder J J，Meerding W J，Bonneux L，et al. Healthcare costs of intellectual disability in the Netherlands：a cost-of-illness perspective. J Intellect Disabil Res，2002，46：168-178

[3] Curry C J，Stevenson R E，Aughton D，et al. Evaluation of mental retardation：recommendations of a consensus conference：American College of Medical Genetics. Am J Med Genet，1997，72：468-477

[4] Chiurazzi P，Schwartz C E，Gecz J，et al. XLMR genes：update 2007. Eur J Hum Genet，2008，16：422-434

[5] Ropers H H. New perspectives for the elucidation of genetic disorders. Am J Hum Genet，2007，81：199-207

[6] Bear M F，Huber K M，Warren S T. The mGluR theory of fragile X mental retardation. Trends Neurosci，2004，27：370-377

[7] Goto Y，Nonaka I，Horai S. A mutation in the tRNA（Leu）（UUR）gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. Nature，1990，348：651-653

[8] Simon D K，Johns D R. Mitochondrial disorders：clinical and genetic features. Annu Rev Med，1999，50：111-127

撰稿人：[1]姚爱玉　[2]陶　炯　[1]张永清

1 中国科学院遗传与发育生物学研究所

2 上海交通大学

审稿人：郑　平　何　成

抑郁症和精神分裂症是怎样发生的？

The Mechanisms of Schizophrenia and Depression

精神疾病是 21 世纪影响人类健康的最主要疾病之一。抑郁症和精神分裂症是最为严重的两种精神疾病。抑郁症以显著而持久的情绪低落为主要临床特征，是情感障碍的一种常见类型。精神分裂症可表现为感知、思维、情感和行为等方面的异常[1]。早在 19 世纪末，克雷佩林（Kraepelin）根据精神分裂症和情感障碍这两种疾病在临床表现、预后和病因学上的不同而将它们划分为两种不同的疾病单元并沿用至今。一个多世纪以来，世界各国学者对抑郁症和精神分裂症进行了大量的研究，然而，到目前为止仍有许多关键问题尚未解决。由于这两种重性精神疾病的病因和发病机制不明，导致临床上缺乏生物学诊断方法和有效的防治措施。

早期有关精神疾病的病因学假说认为精神分裂症和抑郁症这类疾病是具有器质性基础的脑病。克雷佩林在 1913 年的有关论著中就清楚地表明了这一观点，也正是在他的引导下，有关精神疾病的遗传和神经病理研究才开展起来。而布鲁勒（Bleuler）的研究则多少淡化了有关精神疾病是器质性脑病的问题，他认为遗传、环境和脑结构等异常的作用有限。在其后多年，精神疾病的生物学研究进展缓慢。众多研究者在不同的研究方向上徘徊不前。从 20 世纪 50 年代开始，精神药理学研究，特别是氯丙嗪及其他抗精神病药的发现为精神疾病的病因学研究提供了前所未有的转机，这些发现提示精神疾病具有明确的生物学基础。随后脑影像学技术的发展为精神疾病病因学的研究提供了更为直接的证据。遗传和脑影像学技术的发展对精神疾病病因学研究产生了巨大的影响，神经生化研究也取得了一些成就[2,3]。

与其他一些躯体疾病如冠心病、高血压、糖尿病相类似，抑郁症和精神分裂症是多种危险因素综合作用所致。这些危险因素大致可分为遗传因素和环境因素。遗传学研究显示，抑郁症和精神分裂症均具有较强的遗传特点，包括家族史、双生子和寄养子研究在内的遗传流行病学研究均支持遗传因素在发病中起到重要作用；但是这些疾病的遗传模式均不符合经典的孟德尔式遗传，而是一类复杂性遗传疾病。目前较为公认的疾病遗传模式是“多基因微效能模式”，即具有中等或微小作用的多个易感基因的相互作用对疾病的发生至关重要[4]。

神经解剖研究提示，边缘系统、下丘脑和基底节可能与抑郁症的发病有关。边缘系统主司情感、行为的调节表达，并与内脏功能的调节、摄食行为、性行为、记忆功能等密切相关。边缘系统的杏仁核对正常和异常情感的调节起重要作用，所涉及的神经递质可能与多巴胺和γ-氨基丁酸有关。抑郁症病人可能存在多种生物

胺的功能异常。在抑郁症病人的血、尿和脑积液中存在异常水平的单胺代谢物高香草酸（homovanillic acid，HVA）、5-羟色胺代谢物 5-羟吲垛乙酸（5-hydroxyindoleacetic acid，5-HIAA）、去甲肾上腺素代谢物 3-甲基-4-羟苯乙二醇（3-methoxy-4-hydroxyphenylgycol，MHPG）。一般认为，5-羟色胺的缺乏与抑郁症状有关，5-HIAA 水平的减低与暴力及自杀行为相关，而 5-羟色胺能系统的药物可以有效地改善抑郁症状。此外，神经内分泌异常可能与抑郁症发生、发展密切相关，下丘脑-垂体-肾上腺轴的活性过度导致了可的松水平增加。抑郁症还存在促甲状腺激素（thyroid-stimulating hormone，TSH）、生长激素（growth hormone，GH）、促卵泡激素（follicle-stimulating hormone，FSH）、黄体激素（luteinizing hormone，LH）、睾丸激素（testosterone）的释放减少，以及褪黑激素（melatonin）的夜间分泌减少。

有关精神分裂症研究提示，精神分裂症病人存在一系列脑结构与功能的异常，如脑室（侧脑室和三脑室）的扩大和脑容积（海马、额叶、内侧颞叶、丘脑）的减小，大脑缺乏对称性，海马和内嗅皮层等部位有细胞结构紊乱，前额叶皮层功能的损害，眼跟踪功能异常以及 P300 事件相关电位潜伏期的延长等。传统的多巴胺假说认为，精神分裂症的症状是由于多巴胺活性过度所致。进一步的研究显示，精神分裂症的阳性症状可能与边缘系统的多巴胺活性过度有关，而阴性症状与额叶多巴胺活性减低有关。多巴胺活性的改变可能是由于多巴胺递质的增加或减少，或是由于多巴胺受体的数目或敏感性改变。除多巴胺神经递质外，精神分裂症还可能与其他神经递质系统有关，如皮质-纹状体谷氨酸通路的功能缺陷可能导致精神分裂症病理生理改变，5-羟色胺系统异常可引起 5-羟色胺与多巴胺失衡等。

近年来，抑郁症和精神分裂症的神经发育缺陷假说受到普遍重视，由遗传因素和环境因素（如母孕期感染）共同作用，致使胚胎期大脑发育异常[5,6]。然而，患者的神经发育缺陷的即刻效应并不显著，但随着进入青春期或成年早期，在外界环境因素的不良刺激下，则会出现抑郁症或精神分裂症的症状。该假说不但可以解释遗传和环境因素的联合效应，还能较好地解释神经生化、内分泌以及神经递质系统的异常与脑结构异常的发生机制。

有关抑郁症和精神分裂症病因和发病机制的研究是近年来非常活跃的研究领域，相关研究一直是精神病学和神经科学研究领域的前沿热点，近来抑郁症和精神分裂症的病因学研究已经取得了一些令人鼓舞的成果，特别是在全基因组关联研究以及易感基因功能研究方面取得了某些重要发现[7-10]。但是，抑郁症和精神分裂症是多基因复杂疾病，多个易感基因之间如何相互作用？遗传与环境之间的交互作用如何？根据易感基因和拷贝数变异等线索，能否建立适宜的动物模型更好地模拟疾病的临床症状[11]？针对神经发育异常假说，大脑发育过程中哪些环节发生异常？神经影像研究能否提供进一步的证据？脑功能与结构异常能否与遗传易感性相互印

证？回答这些问题需要整合分子遗传学、神经生物学、行为药理学、神经影像学、生物信息学等多层次技术系统地进行研究[12-16]。

参 考 文 献

［1］ Calkins M E，Tepper P，Gur R C，et al. Project Among African-Americans to Explore Risks for Schizophrenia（PAARTNERS）：Evidence for Impairment and Heritability of Neurocognitive Functioning in Families of Schizophrenia Patients. Am J Psychiatry. 2010，167（4）：459-472

［2］ Chen M C，Hamilton J P，Gotlib I H. Decreased hippocampal volume in healthy girls at risk of depression. Arch Gen Psychiatry.，2010，67（3）：270-276

［3］ Ross C A，Margolis R L，Reading S A，et al. Neurobiology of schizophrenia. Neuron.，2006，52（1）：139-153

［4］ Mao Y，Ge X，Frank C L，et al. Disrupted in schizophrenia 1 regulates neuronal progenitor proliferation via modulation of GSK3beta/beta-catenin signaling. Cell，2009，136（6）：1017-1031

［5］ Goto Y，Yang C R，Otani S. Functional and dysfunctional synaptic plasticity in prefrontal cortex：roles in psychiatric disorders. Biol Psychiatry.，2010，67（3）：199-207

［6］ Mei L，Xiong W C. Neuregulin 1 in neural development，synaptic plasticity and schizophrenia. Nat Rev Neurosci.，2008，9（6）：437-452

［7］ Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee，Cichon S，Craddock N，et al. Genomewide association studies：history，rationale，and prospects for psychiatric disorders. Am J Psychiatry，2009，166（5）：540-556

［8］ Kim S，Webster M J. Correlation analysis between genome-wide expression profiles and cytoarchitectural abnormalities in the prefrontal cortex of psychiatric disorders. Mol Psychiatry.，2010，15（3）：326-336

［9］ Psychiatric GWAS Consortium Steering Committee. A framework for interpreting genome-wide association studies of psychiatric disorders. Mol Psychiatry.，2009，14（1）：10-17

［10］ O'Dushlaine C，Kenny E，Heron E，et al. The International Schizophrenia Consortium，Corvin A. Molecular pathways involved in neuronal cell adhesion and membrane scaffolding contribute to schizophrenia and bipolar disorder susceptibility. Mol Psychiatry. 2010 Feb 16.［Epub ahead of print］

［11］ Cook E H Jr，Scherer S W. Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions. Nature，2008，455（7215）：919-923

［12］ International Schizophrenia Consortium，Purcell S M，Wray N R，et al. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia and bipolar disorder. Nature. 2009，460（7256）：748-752

［13］ Potash J B，Bienvenu O J. Neuropsychiatric disorders：Shared genetics of bipolar disorder and schizophrenia. Nat Rev Neurol. 2009，5（6）：299-300

[14] Esslinger C，Walter H，Kirsch P，et al. Neural mechanisms of a genome-wide supported psychosis variant. Science. 2009，324（5927）：605

[15] Shi J，Potash J B，Knowles J A，et al. Genome-wide association study of recurrent early-onset major depressive disorder. Mol Psychiatry. 2010 Feb 2. ［Epub ahead of print］

[16] McMahon F J，Akula N，Schulze TG，et al. Meta-analysis of genome-wide association data identifies a risk locus for major mood disorders on 3p21. 1. Nat Genet. 2010，42（2）：128-131

撰稿人：[1] 李　涛　[2] 张　岱

1 四川大学华西医院

2 北京大学

审稿人： 钟春玖　镇学初

老年性痴呆是如何发生的？

How Does Alzheimer's Disease Happen?

老年性痴呆又称阿尔茨海默病（Alzheimer's disease，AD），已经成为成年人最常见的痴呆性疾病，约占所有类型痴呆的70％。AD最大的危险因素是年龄，其患病率随年龄增加而急剧升高，年龄每增加五岁其患病率大约增加一倍。70岁以上人群患病率接近10％，85岁以上人群患病率则高达50％，成为老年化社会最突出的问题之一[1]。

自1906年Alois Alzheimer开始，老年性痴呆研究已经历百年历史。神经病理学研究证实脑内老年斑（senile plaque）及神经纤维缠结（neurofibrillary tangle）是AD的两个主要病理特征，其核心成分分别是β淀粉样多肽（Aβ）和过磷酸化Tau蛋白。分子生物学研究表明，产生β淀粉样多肽的前体蛋白（APP）基因、早老素（presenilin）基因突变导致家族性AD发生，相应的转基因痴呆动物模型成功制备也证明了这些基因突变与AD的发生有关。载脂蛋白E ε4基因（*APOE* ε4）是目前已知的与晚发性AD发生有关的遗传性发病危险因子之一。

多年来AD研究虽然取得显著进展，但临床研究发现，大约只有20％～25％的AD患者与已知的基因变异有关，尚有75％～80％的AD患者无法确定分子生物学原因。更为重要的是，包括已经确定与基因变异有关的AD病例在内，目前学术界都还无法确定AD到底是如何发病的，其确切的病理损害机制依然是迷雾重重，仍是当前学术界研究和争论的热点[2]。

由于主要由Aβ构成的老年斑是所有AD患者脑内最为突出的病理特征、寡聚Aβ呈现显著的神经毒性作用，目前居于学术主流地位的AD病理损害机制依然是Aβ假设（图1）。该假设认为经α通路降解可不形成Aβ，APP表达后经由β分泌酶和γ分泌酶剪切形成Aβ（β通路）。Aβ形成或代谢通路的异常，导致形成Aβ寡聚体沉积和形成老年斑，触发多元（如NMDA受体、Aβ-朊蛋白介导的信号通路以及细胞钙离子稳态失衡等）的神经损害机制发生，从而导致突触抑制、轴索变性和神经细胞死亡，促使AD发病[3]。

然而，新近的研究业已对这个假设提出了强烈的质疑。首先，临床-病理研究发现部分脑内老年斑广泛存在的患者并无痴呆表现[4]；其次，与老年斑相比，脑细胞内神经纤维缠结程度与患者临床痴呆程度有更好的相关性[5]；此外，迄今为止，几乎所有基于Aβ假设的治疗方案均被临床研究否决，而未能形成有效的治疗手段。例如，人源化的Aβ单克隆抗体（bapineuzumab）和Aβ疫苗虽然能直接攻击

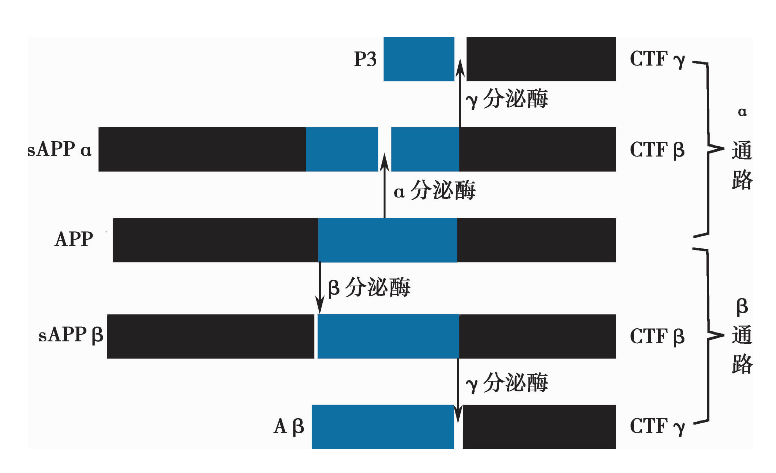


图 1　APP 加工和 Aβ 形成示意图。sAPP：可溶性 APP；CTF：羧基端片段。

和清除脑内 Aβ 和老年斑，但并不能阻止痴呆发展[6]；一种能直接与 Aβ 结合、抑制老年斑形成的小分子化合物（tramiprosate）和一种能抑制 γ 分泌酶活性，减少 Aβ 形成的药物（tarenflurbil）也呈现出令人失望的临床研究结果。

残酷的现实不得不让我们怀疑 Aβ 假设的局限性。在这个假设中，Aβ 的作用可能被过分强调而忽视了来源于 APP 的其他组分（如 N-APP 激活死亡受体-6）[7]、Tau 蛋白过磷酸化、慢性炎症、氧化应激（oxidative stress）、线粒体与能量代谢障碍等损害机制的作用[8]。甚至有人提出，Aβ 沉积和老年斑并不是 AD 病理损害的初始和主要损害机制，而仅仅是 AD 病理损害过程中伴发的病理标志，虽然它们在一定程度上可以反过来加重 AD 的病理损害。

蛋白质的可逆性磷酸化是细胞信号转导等正常生理功能得以维系的不可或缺的调节机制，由具有磷酸转移酶作用的蛋白激酶完成。这是一个复杂而精细的系统，一旦蛋白质过度磷酸化或转变为不可逆的，则正常蛋白质的功能、结构和清除代谢就会发生异常，从而触发细胞和组织病理损害机制，导致蛋白质异常沉积和铰链等病理现象的发生。所谓 AD 患者脑细胞内神经纤维缠结就是过磷酸化的 Tau 蛋白在脑细胞内异常沉积而形成的。由于蛋白磷酸化是一个非常复杂的系统，除 Aβ 可以导致 Tau 蛋白过磷酸化外，已经证明蛋白激酶 B/糖原合成酶激酶-3（Akt/GSK-3）等信号转导通路可以促使 Tau 蛋白过磷酸化、导致 AD 发生。寻找低毒、高效的 Akt/GSK-3 抑制剂已经成为 AD 治疗新的研究靶标之一[9]。

脑细胞葡萄糖和能量代谢障碍是 AD 患者非常突出的早期现象，甚至在 AD 临床症候和特征性病理损害形成之前的数十年即已出现。此外，糖尿病是 AD 的独立危险因素，反之 AD 患者也容易罹患糖尿病。因而，有人称 AD 为“脑胰岛素抵抗”或“Ⅲ型糖尿病”。胰岛素相关的信号通路在 AD 病理机制和干预研究中备受

关注。糖代谢紊乱产生的晚期糖基化终末产物（advanced glycation end-products，AGEs）等也可诱发蛋白质异常糖基化，从而导致蛋白质异常沉积和铰链，诱发AD等神经变形性疾病发生，抑制AGEs产生及其受体功能也已经成为AD治疗研究的另一个靶标。

线粒体不仅是脑细胞葡萄糖和能量代谢的动力工厂，也是自由基产生、氧化损伤和诱导细胞凋亡的主要场所，加之线粒体DNA（mtDNA）损伤后的自身修复能力差，线粒体损伤在AD脑细胞糖和能量代谢障碍中的作用很早就受到研究者充分关注。已有翔实证据表明，Aβ损害线粒体功能、线粒体损伤促使Aβ产生和沉积的恶性循环在AD发病机制中扮演重要角色。拮抗氧化损伤及阻断Aβ损伤线粒体机制，保护线粒体功能一直是学术界研究热点之一。

值得一提的是，与糖代谢和线粒体功能密切相关的维生素B_1缺乏与老年人群年龄密切相关，而且缺乏程度与记忆力下降具有显著相关性，这与AD发生随年龄增加而增加的流行病学特点相吻合，而维生素B_1缺乏在AD人群中也是一个非常普遍的现象，可能与AD的糖和能量代谢障碍及其发生发展相关。

总之，AD的发生是一个十分复杂的病理生理过程，探明其确切的病理损害机制可能还需要假以时日。目前的当务之急是，寻找可早期诊断的疾病标志（特别是临床症候和病理损害发生前的生物学标志，如糖、胆固醇和能量代谢障碍的生物学标志等）和AD病理损害的最终共同通路可能是预防和治疗AD的关键所在。

参考文献

［1］ Alzheimer's Association. Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimer's & Dementia，2009，5：234-270

［2］ Goedert M，Spillantini M G. A century of Alzheimer's disease. Science，2006，314（5800）：777-778

［3］ Kim D，Tsai L H. Bridging physiology and pathology in AD. Cell，2009，137：997-1000

［4］ Savva G M，Wharton S B，Ince P G，et al. Age，neuropathology，and dementia. N Engl J Med，2009，360（22）：2302-2309

［5］ Iqbal K，Grundke-Iqbal I. Alzheimer neurofibrillary degeneration：significance，etiopathogenesis，therapeutics and prevention. J Cell Mol Med.，2008，12（1）：38-55

［6］ Holmes C，Boche D，Wilkinson D，et al. Long-term effects of Aβ42 immunisation in Alzheimer's disease：follow-up of a randomised，placebo-controlled phase I trial. Lancet，2008，372：216-223

［7］ Nikolaev A，McLaughlin T，O'Leary D D M，et al. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. Nature，2009，457：981-989

［8］ Fukui H，Moraes C T. The mitochondrial impairment，oxidative stress and neurodegeneration connection：reality or just an attractive hypothesis? Trends Neurosci，2008，31（5）：

251-256

［9］ Small S A，Duff K. Linking Ab and Tau in late-onset Alzheimer's disease：a dual pathway hypothesis. Neuron，2008，60：534-542

撰稿人：钟春玖

复旦大学附属中山医院

审稿人：镇学初　郑　平

帕金森病是怎样发生的

Mechansims That Lead to Parkinson's Diseae

帕金森病（Parkinson's disease，PD）是一种常见于中老年人群、发病率仅次于阿尔茨海默病的常见中枢神经系统退行性疾病。人们对PD的认识最早可以追溯到1817年英国内科医师James Parkinson在其著作中的描述。PD以运动障碍为其特征性的临床表现，即肌强直、震颤、运动迟缓，常伴有言语、认知、感觉、睡眠等方面的症状，并且随着疾病的发展，患者逐渐丧失运动和生活自理能力。罹患PD不仅极大影响患者的生活质量，同时也为社会和家庭带来沉重的负担。因此，全世界众多科研工作者一直不懈地努力寻找发病原因，希望能有效预防和控制该疾病。

尽管人们对此疾病的了解不断深入，然而，人类对其认识水平仍然极为有限。目前可以明确的是PD大脑的病理改变，即黑质致密部多巴胺（dopaminergic，DA）能神经元进行性变性、死亡，受损区DA神经元大量消失，残存的色素细胞内可出现色素减少或外溢，部分细胞内出现嗜伊红包涵体，即Lewy小体（一种由数十种到上百种蛋白质组成的异常聚集而成的包涵体）。这些病理改变使纹状体内多巴胺含量下降，从而使“黑质—纹状体通路”对大脑运动皮层的兴奋性调节效应减弱，结果产生以运动障碍为主的临床表现。在正常情况下，随着年龄的增长，脑内的DA神经元也会随年龄增长逐渐变性丢失，正常80岁老年人黑质多巴胺能神经元的数量可以减少到健康年轻人水平的一半，而PD病人DA神经元的变性、丢失大大提前并且加速了。那么，到底是什么原因促使DA神经元异常变性、死亡呢?

早期临床观察和流行病学调查资料提示，环境因素可能参与PD的发病。最有说服力的证据是，1983年美国加州一些吸毒的青年人被发现注射了混有MPTP（一种人工合成海洛因时产生的具有神经毒性的中间产物 ）的毒品后出现了典型的散发性PD的临床症状，提示环境因素是引起PD发生的直接原因之一。的确，流行病学资料显示，长期接触农药、工业化学品等环境毒素的人群罹患PD的危险性更高。环境中是否还存在其他未知的可能导致PD的毒性产物，是目前人们还在探讨的问题之一。

但是上述这些证据并不完全支持环境因素是引起PD发生的直接原因的假说。为什么在相同的环境下有的人患病，而大多数的人却不会？于是，人们把目光投向占患者总数不到10％的家族遗传性PD患者的身上，希望由此为研究散发性PD的

发生、发展的分子机制提供重要线索。1997 年，Polymeropoulos 等在意大利和希腊家族中，发现了遗传性 PD 中有 α-synuclein（α-突触核蛋白）基因的突变。1998 年，日本学者鉴定出了 PD 的第二个突变基因 *PARKIN*（*PARK 2*）。随后又相继在家族遗传性 PD 患者中发现了 *UCHL 1*（*PARK 5*）、*PINK 1*（*PARK 6*）、*DJ-1*（*PARK 7*）、*LRRK 2*（*PARK 8*）等基因的突变。经过进一步研究发现，这些基因的产物多与线粒体功能、氧化应激反应和蛋白泛素化降解的异常、蛋白质异常聚集等环节有关[1]。其中α-Synuclein 被认为是 PD 发病过程中的关键分子。α-Synuclein 是一个仅由 144 个氨基酸组成的蛋白质，在神经元间的信号传递过程中起重要作用。该基因的突变可使蛋白质的氨基酸序列发生微小变化以致不能正确折叠，当错误折叠的蛋白质数量超过细胞正常处理能力时会大量聚集，参与形成 Lewy 小体，最终导致神经元死亡[2,3]。虽然这些基因的突变尚不能直接解释散发性 PD 发生的原因，但家族遗传性 PD 与散发性 PD 有着颇为类似的病理变化和临床症状，说明两者之间可能在发病机制上存在一定程度的共性，对前者的研究有助于对散发性 PD 发病机理的理解。发现更多与 PD 相关的遗传学证据将会推动和深化人们对 PD 的认识。

目前，已有许多学者对 PD 的发病机制提出了不同的假说，如氧化应激、线粒体功能障碍、细胞凋亡、兴奋性氨基酸的毒性、免疫炎症反应、神经营养因子缺乏、病毒感染等。但氧化应激似是 DA 神经元损伤的最重要病理过程之一，因为其他学说最终仍可通过破坏神经元的氧化应激平衡导致细胞死亡。氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时体内氧化活性分子产生过多，超出机体对氧化物的清除能力，使氧化系统和抗氧化系统失衡，以致机体损伤的病理反应[4]（图 1）。体内诱发氧化应激的主要物质是自由基。内源多巴胺自身氧化产生的半醌和醌就是潜在的毒物，它们在代谢的过程中可产生自由基。外源性毒素（如 MPTP、杀虫剂等）可影响线粒体功能，线粒体 DNA 的突变以及 *PARKIN*、*PINK 1*、*DJ-1*、α-synuclein 等基因的突变也与线粒体功能的异常有关。而线粒体功能受损与自由基产生本身又是一个互相作用的过程[5]。在氧化应激反应中，蛋白质与自由基以及在催化物（蛋白中的某些金属离子）作用下发生一系列反应，可形成蛋白质过氧化物。受到异常修饰的蛋白质不仅失去了正常的功能，而且成为对细胞具有毒性作用的“垃圾”。由此推理 PD 发病的过程可能是：黑质神经元由内/外源物质作用下，触发了一连串的细胞应激反应，导致蛋白质错误折叠和异常修饰，同时泛素-蛋白酶体系统受到抑制，蛋白降解异常，分子伴侣消耗殆尽，毒性蛋白聚集，形成 Lewy 小体，随之而来的是神经元的死亡。

虽然每一种假说都建立在一定的实验证据上，但目前没有任何一个学说可以直接解释 PD 发生的机制，大多仅能作为增加 PD 易感性的一个因素或者是参与 PD 发生发展中的某个环节。这说明 PD 发生的原因以及发展过程极其复杂，是内/外环境因素和遗传易感性共同作用，并随年龄的增加不断积累进展的结果。

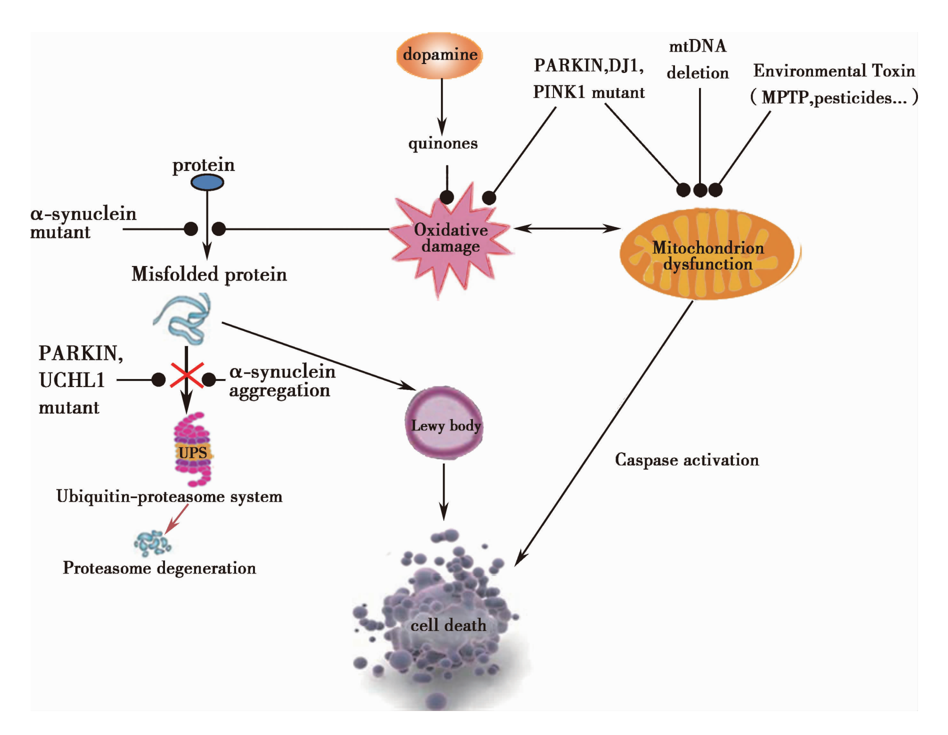


图 1　已知的与帕金森病发病过程相关的分子事件

已有的证据提示不同的因素之间也存在着许多联系，那么这些因素之间是如何相互作用的？哪些因素是始作俑者，哪些只是发展过程中的某个过渡或中间环节？为何 DA 神经元只选择性地发生于黑质——弄清这个问题，可能有助于 PD 发病根本原因的阐明，虽然已有许多研究探讨黑质局部微环境和 DA 神经元本身特性（离子通道、线粒体功能等）与其他部位的差异[6]，但到目前为止尚未能找到令人信服的答案。此外，在不断的基础研究和临床实践中，新的发现也有助于帮助我们不断以新的视角去了解 PD，可以不断地加深——甚至可能是修正我们对疾病发生发展的认识。例如，目前在接受人胚胎神经细胞移植治疗的患者中得到一些有趣的发现：尽管供体细胞的基因与患者的不同，但若干年后移植的细胞内也出现了含有错误折叠的α-Synuclein 蛋白的 Lewy 小体，因此有学者提出发生突变的错误折叠的α-Synuclein蛋白可能具有类似引起“疯牛病”发生的朊蛋白的某些特性，即可以释放出病变细胞并“感染”正常的细胞——这一观点同我们以往对α-Synuclein 蛋白的异常聚集病理过程的认识大相径庭[7]。

总之，对 PD 到底是怎样发生的这个问题，人们目前仍然不能给出完满的答案。未来有更多的问题亟待我们去思考和解决，众多的 PD 发病机制的假说仍需要通过不同的实验加以反复验证，从而获得最接近实际的理论，为从根本上有效预防

和治疗这个疾病找到正确的切入点。

参 考 文 献

[1] Lees A J, Hardy J, Revesz T. Parkinson's disease. Lancet, 2009, 373 (9680): 2055-2066

[2] Kruger R, Kuhn W, Muller T, et al. Ala30Pro mutation in the gene encoding alpha-synuclein in Parkinson's disease. Nat Genet, 1998, 18 (2): 106-108

[3] Wakabayashi K, Tanji K, Mori F, et al. The Lewy body in Parkinson's disease: molecules implicated in the formation and degradation of alpha-synuclein aggregates. Neuropathology, 2007, 27 (5): 494-506

[4] Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. Ann Neurol, 2003, 53 Suppl 3: S26-36; discussion S36-S38

[5] Beal M F. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. Ann Neurol, 2005, 58 (4): 495-505

[6] Birgit L, Olga H. K-ATP channels promote the differential degeneration of dopaminergic midbrain neurons. Nature Neuroscience, 2005, 7: 1742-1751

[7] Olanow C W, Prusiner S B. Is Parkinson's disease a prion disorder? Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106 (31): 12571-12572

撰稿人：[1] 杨乔乔　[2] 镇学初　[3] 周嘉伟

1 复旦大学上海医学院

2 中国科学院上海药物研究所

3 中国科学院神经科学研究所

审稿人：钟春玖　镇学初

为什么会发生肌萎缩侧索硬化病

Why does Amyotrophic Lateral Sclerosis Occur?

肌萎缩侧索硬化病是累及上、下运动神经元的一种慢性进行性变性病，患者最终会因全身肌肉萎缩、无力、吞咽困难和饮水呛咳，直至最终呼吸肌无力导致呼吸衰竭而死亡。多数患者进展较快，从诊断到死亡平均病程仅 2～5 年，平均寿命 3.5 年左右。发病人群主要是中年人，他们在社会家庭等方面起着重要的作用。最典型的代表人物是著名科学家霍金。该病目前尚无特效的治疗方法，并且患者始终意识清楚，能够感知疾病进展所造成的日益加重的肢体残障及后期由于呼吸肌无力而产生的终日相伴的窒息感，其内心的绝望与痛苦难以想像。

目前世界各地许多研究机构针对肌萎缩侧索硬化病患者为何会发生运动神经细胞死亡展开了广泛的研究，但仍没有令人满意的答案。肌萎缩侧索硬化病既有家族性，又有散发性，后者多见。基因突变也有很多类型，涉及不同的基因，其中研究最多的是 *SOD 1* 基因突变，而仅涉及 *SOD 1* 基因的蛋白突变又有多种形式。如此多的基因突变形式以及占绝大多数的散发患者最终却具有相似的病理改变。是殊途同归？打开了同一个潘多拉的盒子，从而开启了运动神经死亡的级联反应，还是过程不同而仅具有运动神经元死亡这一相同的结果尚不清楚。

为了研究肌萎缩侧索硬化病中运动神经如何死亡，学者们建立了转基因动物模型、药物注射动物模型、细胞培养模型和组织器官培养模型，其中转基因动物模型应用最为广泛，它将人类的 *SOD 1* 致病基因导入动物体内，成功导致了受体运动神经元的死亡，目前对该病病因、病理、药物筛选很大程度上都依赖该模型。依赖该模型所得出的结论极大地促进了人们对此病的认识，然而家族性肌萎缩侧索硬化仅占所有患者的 10%，因 *SOD 1* 基因突变又仅占所有家族突变的 20%左右，所以该模型仅能模拟部分患者的发病机制，因此其研究所得出的结果本身就存在局限性。但目前未见更为理想的动物模型报道。

由于 *SOD 1* 基因突变可以造成肌萎缩侧索硬化病发生，学者们围绕 *SOD 1* 如何造成运动神经元展开了广泛研究。人们尝试着将 *SOD 1* 基因敲除，发现动物并不发生肌萎缩侧索硬化，否定了 *SOD 1* 功能缺失造成运动神经元死亡的假设。后来人们发现突变的 SOD1 蛋白在动物体内形成聚集体，聚集体的出现与临床发病相一致[1]，提示聚集体可能是 SOD1 蛋白发生毒性作用的形式。有研究认为聚集体干扰了溶酶体功能、阻碍轴浆运输，也有研究认为聚集体阻碍了细胞重要的能量器线粒体的功能导致运动神经元死亡。然而近来有研究认为 SOD1 的聚集并非造成运动神经元细胞的原

因，而早期尚未聚集的突变 SOD1 蛋白是导致运动神经细胞死亡的原因[2]。

目前的研究认为运动神经元死亡的原因可能与兴奋性氨基酸毒性有关。有学者报道该病在职业运动员中发病率更高，发病后过度锻炼会加快疾病进展。目前唯一被美国食品药品管理局批准用于治疗肌萎缩侧索硬化病的药物就是兴奋性氨基酸拮抗剂（例如利鲁唑），给动物鞘注兴奋性氨基酸也可以产生选择性运动神经元死亡均提示兴奋性氨基酸毒性作用的存在。有研究认为谷氨酸 AMPA 受体进入运动神经元死亡过程中起到重要作用，而其他途径进入神经元的钙离子不能引起运动神经元死亡[3]，虽然其中具体机制尚未明了，但追踪该受体所引起的下游信号应当是探索该病机制的方向之一。

运动神经元的死亡方式也是悬而未决的疑问。神经元死亡存在凋亡和坏死两种机制，运动神经元变性是程序死亡的过程，然而肌萎缩侧索硬化病中却没有发现明显的 DNA 断裂及染色体聚集等典型的凋亡特征，形态也介于凋亡和坏死之间的形态改变，因此目前有理论认为该病中运动神经的死亡是介于凋亡和坏死的中间形式。缺乏对死亡类型的了解，使人们在研究死亡的机制时不能明确死亡的始动信号，对观察疾病进展及开展药物干预均带来极大的不便。

肌萎缩侧索硬化病中，运动神经细胞是死亡的靶细胞，然而就如人与社会的关系一般，运动神经细胞的生老病死也离不开它所处的环境及与之密切联系的其他细胞。近年来胶质细胞在发病机制中的作用越来越受到重视，胶质细胞在中枢神经系统中的比例远高于神经元，胶质细胞在该病中重要作用的最直接证据就是只有在神经元周围的非神经性细胞也含有足够量的 *SOD 1* 突变基因时，才能引起肌萎缩侧索硬化的病理改变；仅神经元含有突变的 *SOD 1* 基因，周围细胞基因正常时不会发病。有动物实验研究认为运动神经元内表达 *SOD 1* 基因是决定发病和疾病早期过程的主要因素，而小胶质细胞内的 *SOD 1* 基因则对疾病的进展能起到调控作用，星形胶质细胞内的 *SOD 1* 基因表达不影响疾病的发生及早期经过，但影响小胶质细胞激活，也能起到调控疾病进展的作用[4]。以上的研究提示我们对肌萎缩侧索硬化的研究不一定非要盯着运动神经元不放，对周围细胞展开研究或可辟出通幽蹊径。

有观点认为肌萎缩侧索硬化病属于多系统病变[5]。肌萎缩侧索硬化患者存在认知功能障碍，如学习能力受损、工作的记忆和计划能力下降、空间定向力和语言能力受损、信息合成的速度减慢以及强迫思维。对肌萎缩侧索硬化病合并痴呆患者的病理学研究发现，除上下运动神经元受累外，还有额颞叶萎缩、非特异性皮质神经元缺失、黑质神经元脱失。有研究从临床和病理的方面观察认为肌萎缩侧索硬化病中植物神经功能系统也受到影响[6]。以上的研究与传统的肌萎缩侧索硬化病仅累及运动神经细胞的观点相左，对研究肌萎缩侧索硬化病的发病机制既是补充又是挑战。

近年来对肌萎缩侧索硬化病的研究虽有些使人欣喜的进展，然而总体看仍是窥

豹一斑。阐明为什么会发生肌萎缩侧索硬化病，还有很远的路要走。

参 考 文 献

［1］ Bruijn L I，Houseweart M K，Kato S，et al. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked *SOD 1* mutant independent from wild-type *SOD 1*. Science，1998，281：1851-1854

［2］ Karch C M，Prudencio M，Winkler D D，et al. Role of mutant *SOD 1* disulfide oxidation and aggregation in the pathogenesis of familial ALS. Proc Natl Acad Sci USA，2009，106：7774-7779

［3］ Corona J C，Tovar-y-Romo L B，Tapia R. Glutamate excitotoxicity and therapeutic targets for amyotrophic lateral sclerosis. Expert Opin Ther Targets，2007，11：1415-1428

［4］ Yamanaka K，Boillee S，Roberts E A，et al. Mutant *SOD 1* in cell types other than motor neurons and oligodendrocytes accelerates onset of disease in ALS mice. Proc Natl Acad Sci USA，2008，105：7594-7599

［5］ van der Graaff M M，de Jong J M，Baas F，et al. Upper motor neuron and extra-motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis：a clinical and brain imaging review. Neuromuscul Disord，2009，19：53-58

［6］ Asai H，Hirano M，Udaka F，et al. Sympathetic disturbances increase risk of sudden cardiac arrest in sporadic ALS. J Neurol Sci，2007，254：78-83

撰稿人：齐　新　崔丽英

北京协和医院

审稿人：钟春玖　镇学初

癫痫的发生机理

The Pathogenesis of Epilepsy

癫痫（epilepsy），是一组由已知或者未知病因引起的脑部神经元高度同步化，由具有自限性的异常放电所致，以反复发作性、短暂性、通常为刻板性的中枢神经系统功能失常为特征的综合征。患者发作时，根据异常放电的神经元所在位置和放电扩布范围的不同，可表现为单独的感觉、运动、意识、精神和行为等功能障碍或兼而有之。癫痫患者中约 1/3 以上药物治疗无效，为难治性癫痫患者。癫痫的病程如图 1 所示。由基因和/(或）环境的作用，导致脑内兴奋—抑制平衡被打破，引起癫痫的形成与发作，其中药物治疗无良效者，反复发作又引起癫痫扩散和灶点转移，最终形成难治性癫痫。

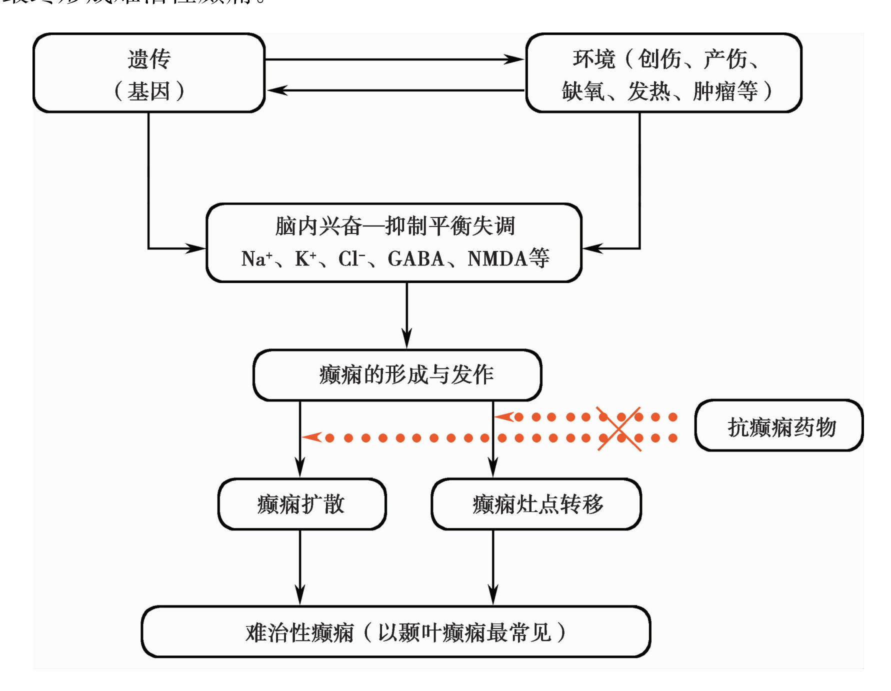


图 1　癫痫的病因及进程

癫痫是遗传与环境多种因素作用的结果，其发生机理非常复杂，涉及非常多的因素，本文主要介绍以下 5 个方面的因素（图 2）。

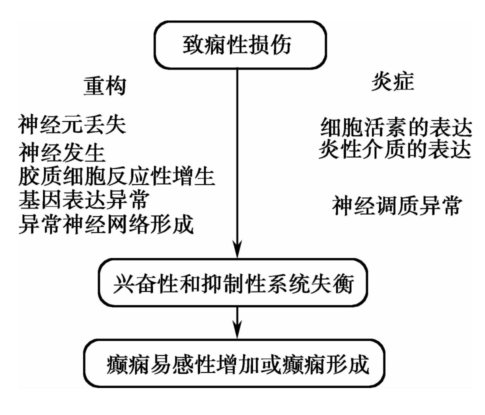


图 2　癫痫的可能机制

1. 炎症

动物模型和临床实验均证明，多种类型的癫痫同时伴发中枢神经系统的炎症反应，提示炎症反应在癫痫中具有重要作用。炎症反应在癫痫中发挥双重作用。一方面，炎症反应作为对创伤的一种应答，起到神经保护作用；另一方面，细胞活素或者其他炎性介质：①通过影响神经递质的释放和重摄取，引起细胞外谷氨酸增加；②增加花生四烯酸和一氧化氮等氧化应激介质的产量，起到促癫痫作用。然而，细胞活素还能引起神经生长因子、睫状神经营养因子和胰岛素样生长因子等物质的合成和释放，起神经保护作用；另外，细胞活素能够刺激抗氧化途径，可能也起到神经保护作用[1]。总的来说，炎症在中枢神经系统中的最终作用取决于具体的炎性介质、组织暴露于炎症的时间，以及细胞分泌的营养因子和炎症因子之间的平衡。

关键问题是，炎症到底是作为癫痫的一个原因还是结果而存在的？理解炎症在癫痫中的作用的详细机制将有助于人类对癫痫发病机制的认识。

2. 星形胶质细胞

癫痫常伴有星形胶质细胞反应性增生：①颞叶癫痫患者的一个重要特征就是癫痫灶点星形胶质细胞增生；②神经胶质瘤（一种低度恶性的肿瘤，以星形胶质细胞瘤最常见）与癫痫密切相关；③结节性硬化患者（患者星形胶质细胞发生不同程度的增生）90％以上都会伴发癫痫。目前认为星形胶质细胞的形态和功能改变都与癫痫密切相关，手术切除胶质细胞增生的组织能够明显改善癫痫。但是，是什么因素诱发胶质细胞的结构和功能异常及不同类型的星形胶质细胞（缝隙连接型和非缝隙连接型）在不同类型的癫痫状况下各自分别起什么作用，都有待进一步研究[2]。

3. 神经调质

与癫痫相关的神经调质很多，大致可以分为：①存在于神经元或由神经元分泌的神经调质；②在细胞外基质中存在的神经调质；③与胶质细胞相关的调质。它们直接或间接影响癫痫易感性。很多神经调质能够影响癫痫形成过程中的一些变化，

例如神经发生、轴突出芽，或者影响到癫痫形成过程中的基因表达。反过来，神经调质和它的作用在癫痫发展过程中不同阶段也有不同的变化。虽然神经调质在癫痫中的作用非常复杂，但其研究意义被看好，因为相对于经典的神经递质（谷氨酸，GABA）或离子通道（K^+通道，Na^+通道等）来说，以神经调质为靶点所带来的副作用往往要小很多。

4. 基因表达变化和异常神经网络的形成

遗传与环境共同影响癫痫的形成。许多癫痫患者都呈现出明显的家族易感性，现已证实许多基因在癫痫发作和癫痫易感性中起到非常重要的作用；然而与遗传相关的癫痫只占很小一部分，临床上的癫痫患者，大部分是后天获得的，说明环境才是形成癫痫的主要原因[3]。分子生物学的发展为研究环境影响基因表达提供了有力工具。癫痫发作和形成过程中涉及的细胞基因表达变化被广泛研究。大部分研究聚焦于单次发作后的基因表达变化，反映了神经元活动增加和神经元损伤对基因表达的影响；而针对全部转录子的基因表达的整体分析表明，以往认为很重要的、在继发性癫痫中发挥重要作用的基因（包括那些与受体和通道紧密相关的），往往很少涉及，说明受体和电压依赖性通道病可能只是癫痫过程中与一系列细胞的改变并行的事件而已[4,5]，提示癫痫的发生涉及到异常神经网络的形成——癫痫是个网络事件，而非互不联系的单细胞群发事件。

癫痫异常神经网络的形成涉及兴奋性和抑制性系统的失衡，其合力是朝兴奋性增强方向进展，遗传和环境因素通过引起神经网络的重塑进程，引起发作阈值的降低，最终引起癫痫。对突触可塑性与癫痫的关系的研究可能有助于最终解决异常网络的形成机制。

5. 中枢神经系统的发育

幼年时期具有非常适合癫痫形成的条件——这个时期中枢的兴奋性系统占优势而抑制性系统占劣势，除了与成年癫痫一样外，癫痫的灶点转移现象在这个阶段高发。中枢发育异常也是很多难治性癫痫的病因。另一方面，虽然人类前瞻性研究和回顾性研究的结果对幼年时热惊厥是否能够导致成年后癫痫有矛盾，但动物实验表明，幼年大鼠热惊厥可导致成年后癫痫易感性增加或导致成年后癫痫，提示幼年时惊厥能够影响发育，导致成年后癫痫[6]。阐明发育过程与癫痫的关系及机制可能有助于帮助人类对癫痫的预警。

参 考 文 献

［1］ Vezzani A，Granata T. Brain inflammation in epilepsy：experimental and clinical evidence. Epilepsia，2005，46：1724-1743

［2］ Wallraff A，Odermatt B，Willecke K，et al. Distinct types of astroglial cells in the hippocampus differ in gap junction coupling. Glia，2004，48（1）：36-43

［3］ Kandel E，Schwartz J，Jessell T. Principles of Neural Science. New York：Elsevier，2000
［4］ Chen K，Aradi I，Thon N，et al. Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. Nat Med.，2001，7：331-337
［5］ Noebels J L. The biology of epilepsy genes. Annu Rev Neurosci.，2003，26：599-625
［6］ Hensch T K. Critical period plasticity in local cortical circuits. Nat Rev Neurosci.，2005，6(11)：877-888

撰稿人：陈　忠

浙江大学

审稿人：镇学初　钟春玖

脑缺血神经元死亡的发生和防治

Occurrence，Prevention and Treatment of Ischemic Neuronal Death

随着世界经济的发展、医学技术的进步以及人类文明的相互促进，人类在控制传染病方面已经取得了突出的成绩，人均寿命不断提高。但与此同时，各种慢性疾病已成为严重威胁人类生命与健康的主要疾病。脑卒中以其高发病率、高死亡率、高致残率、高复发率已成为人类健康面临的重大危害之一。

脑卒中是指供应脑部血液的血管病变，致使脑部血流被阻断，脑组织得不到氧气和营养物质的供给而导致神经损伤的一类神经系统疾病；它主要包括脑部血管栓塞/堵塞等导致的缺血性脑卒中和脑部血管破裂出血导致的出血性脑卒中。其中缺血性脑卒中最为常见，约占70％～80％。

脑卒中是我国第二大死亡原因和首位致残原因[1]。据世界卫生组织（WHO）2002年度的报告，全球每年约有1500万脑卒中新发病例，550万人死于该疾病，500万人因此病而永久残疾。由于脑卒中发病率高、病程长，治疗效果差且费用昂贵；而且脑卒中致残率高、中晚期病人多，多数患者丧失工作能力甚至生活能力，需要家庭、社会机构的照料，因此，脑卒中为患者本人及其家庭带来了沉重的精神压力和经济负担，同时，也为社会发展带来了巨大的经济损失。

因此，脑卒中已成为世界各国科学家研究的重大课题，各国科学家投入了大量的资金和精力，从脑卒中发生、发展的各个环节入手，试图寻找到脑卒中的治疗方法。

缺血性脑卒中是由脑部血管闭塞或阻塞造成脑部血流中断所导致的，因此，一个显而易见的办法，就是使栓塞的血管再通，让缺血的脑区恢复血供，以此来降低缺血对神经元的损伤。组织纤维蛋白溶酶原激活物（tPA）是目前唯一获准用于脑卒中临床治疗的药物，该药物可以促进纤溶酶原转化为纤溶酶，进而降解血栓中不溶性纤维蛋白，达到再通血管的目的。但该药物在溶解血栓的同时，易引起机体出现出血倾向，同时，该药物本身就对神经元具有毒性作用，加之其具有严格的治疗时间窗限制（发病后3小时内），仅有约3％～8％的缺血性脑卒中患者受益于该药物。在我国，由于健康救助体系的不完善，使得患者被送抵医院的时间往往超过了tPA严格的治疗时间窗，因此，我国脑卒中患者受益于溶栓疗法的比例要大大低于3％～8％。通常情况下，我国脑卒中的治疗仅限于对症处理[1]。

脑缺血后神经元的大量死亡是脑卒中的一个重要病理过程，因此，尽可能地减少脑缺血后神经元的死亡，或者说，干预神经元死亡的过程以保存功能性神经元，成为了治疗脑卒中的又一治疗策略——神经保护[2]。

若要干预神经元的死亡过程，必须首先了解神经元死亡的分子机制。几十年来，各国科学家在神经元死亡机制方面进行了大量的研究，取得了一定进展。研究表明，虽然同样是死亡，但是位于缺血灶不同部位的神经细胞表现出完全不同的死亡形式。位于缺血灶中心区的神经细胞在数分钟内主要以坏死（necrosis）的形式死亡，这种死亡的典型特征是细胞肿胀。而位于缺血灶周边区域（缺血半暗带）的神经细胞则大多以受程序调控的凋亡（programmed cell death，apoptosis）形式死亡，或者以一种被称为自噬（autophagy）的形式死亡。不管是以凋亡还是自噬的形式死亡，缺血半暗带区神经细胞的死亡过程是一个相对较慢的迟发性过程，这也给我们通过治疗来干预神经细胞死亡过程提供了机会[3]。

尽管不同死亡形式的分子机制不尽相同，但是某些起始事件却参与了各种形式的死亡。如当缺血发生时，首先受到影响的是神经元线粒体内的电子传递链及氧化磷酸化过程，这一过程受损的直接后果是细胞能量物质 ATP 的减少以及自由基的大量产生[4]。ATP 的减少使得细胞内许多需要依赖于 ATP 的过程严重受损，如维持细胞内外离子平衡的 Na^{+}/K^{+}泵功能失常，致使细胞膜去极化及 Ca^{2+} 内流，而自由基的大量产生则通过损伤 DNA 和线粒体使神经元死亡。细胞去极化引起的谷氨酸释放，以及从缺血中心区死亡细胞中释放出来的大量谷氨酸，可以激活神经元表面的谷氨酸受体（NMDA 受体和 AMPA 受体）使得大量 Ca^{2+} 涌入细胞内，导致 Ca 超载。Ca 超载进一步增加了自由基和 NO 的产生，最终导致神经细胞死亡。除了上述离子和化学小分子的异常，在神经细胞死亡的过程中，许多蛋白质也参与其中，例如，Ca^{2+} 激活的 Ca 依赖性蛋白酶可以导致蛋白质降解，自由基引起的磷脂酶活性增加致使磷脂分解异常，线粒体通透性增加而释放的促凋亡分子细胞色素 C 和 caspases 引起细胞凋亡，缺血损伤区聚集和激活的白细胞和小胶质细胞释放的炎症因子引起神经元功能损伤等[5]。

针对上述参与神经元死亡过程的重要分子，科学家们设计了许多不同的化合物，如 NMDA 受体阻断剂、Ca^{2+} 螯合剂、自由基清除剂等，试图以此减少脑缺血后神经细胞死亡。然而，令人沮丧的是，尽管许多药物在动物实验阶段具有明显的神经保护作用，但是在临床试验阶段，所有药物抑或因为没有疗效，抑或因为严重的副作用，无一例外地以失败告终[6]。

其实，这些药物的失败，也似乎应该在人们的意料之中。因为神经细胞的死亡过程远较我们已经了解的过程复杂，而且很多分子及事件互为上下游，形成了复杂而庞大的网状级联关系。因此，正如美国国立健康研究院（NIH）STAIR（The Stroke Therapy Academic Industry Roundtable Group）协作组认为的，单一的针对某一环节的药物很难取得满意的神经保护作用，甚至可能导致严重的副作用。因此，开发出能够影响死亡过程多个环节的药物，或者联合使用影响重要环节的药物，似乎是神经保护剂研发的出路[7]。

既然我们无法挽救死亡的神经元，那么我们是否可以找到某种方法来替代那些

丧失了功能的神经元呢？正是基于这一想法，人们尝试了又一全新的治疗策略——神经修复。神经修复是指激活内源性或移植外源性神经干细胞，促使其分化为新的神经元以取代已死亡的神经元发挥功能的一种治疗策略。

自从1998年瑞典科学家Eriksson等应用5-溴脱氧尿苷（5-bromodeoxyuridine，BrdU）标记分裂细胞的方法发现成年人类大脑中存在神经元再生现象以来，神经前体细胞因其具有增生分化的特点和用来进行移植治疗脑卒中的潜在优势迅速成为国内外研究的热点。但如何大量激活内源性神经干细胞？如何大量获得外源性神经干细胞？如何使内源性或移植的外源性神经干细胞定向地分化为神经元并迁移到损伤部位？如何使新生的神经元整合入神经环路而有效地替代死亡神经元的功能？一系列复杂而棘手的问题尚待科学家予以解决。但不管怎样，神经修复这一治疗策略为脑缺血的治疗带来了一线曙光[8]。

既然脑卒中目前还没有理想的治疗方法，那么预防脑卒中的发生则成为脑卒中防治过程中的重中之重。脑卒中的危险因素分为可干预与不可干预两种，年龄、性别、种族和家族遗传性是不可干预因素。可干预的一些主要危险因素包括高血压、心脏病、糖尿病、吸烟、酗酒、血脂异常、肥胖、颈动脉狭窄等。这些危险因素，很多都可以通过健康的生活方式得到降低，比如合理的饮食结构，经常性的体育运动，乐观的心态及戒除不良嗜好等[9]。

参 考 文 献

[1] 中华人民共和国卫生部. 中国脑血管病防治指南. 北京：人民卫生出版社. 2007.

[2] Garber K. Stroke treatment-light at the end of the tunnel? Nat. Biotechnol，2007，25：838-840

[3] Yuan J Y. Neuroprotective strategies targeting apoptotic and necrotic cell death for stroke. Apoptosis，2009，14：469-477

[4] Mattson M P，Gleichmann M，Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. Neuron，2008，60：748-766

[5] Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. Physiol. Rev.，1999，79：1431-1568

[6] Lipton S. Pathologically activated therapeutics for neuroprotection. Nat. Rev. Neurosci.，2007，8：803-808

[7] Rogalewski A，Schneider A，Ringelstein E B，et al. Toward a multimodal neuroprotective treatment of stroke. Stroke，2006，37：1129-1136

[8] Eriksson P，Perfilieva E，Björk-Eriksson T，et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. Nat. Med.，1998，4：1313-1317

[9] Lo E H，Dalkara T M. Mechanisms，challenges and opportunities in stroke. Nat. Rev. Neurosci，2003，4：399-415

撰稿人： 高天明

南方医科大学

审稿人： 钟春玖　镇学初

干细胞诱导分化与神经组织修复和再生

Induced Differentiation of Stem Cells with Brain Repair and Regeneration

神奇的干细胞

干细胞的神奇，在于它是“万能细胞”，并有“起死回生”的作用。那么既然干细胞这么神奇，为什么人类还有那么多疾病无法治疗呢？这是因为干细胞在胚胎发育和躯体形成过程中起到无可替代的作用，但是成体后，这些干细胞进入静息状态，是否能唤醒它们，唤醒后让它们再像胚胎时期那样起作用，替代损失的细胞，恢复器官的功能，还有很多研究要做。

干细胞之所以被称为“万能细胞”，意为它们先天具有产生身体各种组织细胞的能力。它们一方面进行自我更新，产生与亲本完全相同的子代细胞，以保持干细胞数量的恒定；另一方面在一定条件下可以进入分化程序，通过不对称分裂产生分化的子代细胞，最终形成功能特异的组织类型。而“起死回生”之意，在于其具备治疗疾病、恢复健康的巨大潜能。这是目前的科学难题，极具挑战性。

无论是体积庞大或小巧的哺乳类动物，最初都来源于一个受精卵。当受精卵分裂发育成囊胚时，内层细胞团的细胞即为胚胎干细胞。胚胎干细胞是一种未分化细胞。它具有发育的全能性，能分化出成体动物的所有组织和器官，包括生殖细胞。1970 年胚胎干细胞被从小鼠中分离出来并在体外进行培养。

另一类干细胞是成体干细胞，又称为组织干细胞，是指存在于人或动物的已分化组织中的未分化细胞。如：神经干细胞、骨髓间质干细胞、造血干细胞、胰腺干细胞等。这些干细胞在发育过程中，将按照其自身规律（由基因和组织微环境决定）向特定的组织器官方向分化，成为具有特定功能的终末细胞。

过去认为成体干细胞中，主要是上皮干细胞和造血干细胞，在出生后可以持续产生新的功能细胞，从而使组织和器官保持生长和衰退的动态平衡。最近研究表明，以往认为不能再生的神经组织和心脏也仍然有成体干细胞，这为相关的一些系统疾病的根治奠定了基础。

神经干细胞

车祸或外伤所致的脑出血和脊髓损伤，以及神经退行性疾病，如脑中风、老年

性痴呆和帕金森病等，都会发生永久性神经细胞死亡，造成无法恢复的神经功能障碍。神经细胞死亡后无法再生，一直是留给科学家们的难题。

直到 1992 年，科学家在大脑侧脑室的室管膜下区，发现了一群细胞。他们将这些细胞在体外进行培养，发现它们不但能自我更新，一个细胞可以生长为一个神经球，而且还可以分化为各种神经细胞。这些细胞就是首次发现并被命名的神经干细胞。此后，在大脑的其他部位例如海马和脑皮质，以及脊髓，都发现并培养出这种神经干细胞。神经干细胞的发现，使“神经细胞死亡后不能再生修复”的传统观念被打破。

神经干细胞来源于胚胎干细胞，逐渐分化为神经前体细胞，再分化为各种神经细胞。神经干细胞既可以进行对称分裂，形成两个完全相同的子代细胞，均保持神经干细胞的特性；也可以进行不对称分裂，形成一个保持干细胞特性的子代细胞和一个进入成熟分化状态的细胞。由于神经干细胞的这些特性，就有可能在脑损伤神经细胞死亡后，产生新的神经细胞进行组织修复。神经干细胞还具有迁移的能力，到达需要补充细胞的部位，形成新的功能细胞。神经干细胞的增殖、分化和迁移的功能，不但取决于细胞本身的基因控制，也取决于细胞所处的微环境，包括血管环境，神经干细胞周围的神经营养因子、蛋白质、细胞因子、细胞间质和趋化物质等。

干细胞的研究

一直以来，干细胞的应用治疗一直存在着两个问题：一是免疫排斥，二是伦理问题。因此世界各地的科学家都希望能够从病人自身取得的细胞进行诱导，让其重新成为干细胞或者能够直接移植的特定的细胞类型。但是让已经分化的细胞重新回到原始状态似乎不是一件容易的事情，直到 2006 年，日本的中山伸弥研究员在这方面取得了令人瞩目的进展[1,2]，他在成纤维细胞中表达了能够维持胚胎干细胞特性的四个因子：oct4、sox2、klf4、c-myc。发现这些成纤维细胞变成了干细胞的形态，而且具有类似干细胞的功能特性。随后世界各地的科学家也都证明了此方法的可行性，而且用人的细胞也能得到同样的结果。同时，不光用成纤维细胞，用其他的细胞，例如 B 细胞、神经干细胞等，都可以诱导成胚胎干细胞[3,4]。这个开创性的工作在一定程度上解决了胚胎干细胞治疗应用中面临的两个问题，也为干细胞治疗提供了光明的前景。

从患者的组织直接获得干细胞，但是要进一步治疗疾病的话，需要在体外分化成特定的细胞类群，然后才能进行移植，这里存在的最大的问题就是：如何保证获得的细胞足够的“纯”？为解决此问题，很多人希望能够在在体情况下，直接让周围或者迁移过来的细胞直接转分化成需要的细胞，并整合到该受损的组织中，帮助

该组织直接恢复。经过科学家们的不懈努力，2007 年，美国的 Melton 研究小组[5]，利用小鼠的胰腺作为研究对象，在体内的胰脏外分泌细胞中过表达三个内分泌细胞的疾病，成功将其诱导成有功能的内分泌细胞，并且这些内分泌细胞能够分泌胰岛素，在一定程度上缓解了糖尿病的症状。该项工作为干细胞治疗提供了更加强大的工具。之后的 2010 年，美国科学家又成功将小鼠的成纤维细胞通过过表达三种因子诱导为成熟的、有功能的神经元[6]，这为患有神经退行性疾病的患者带来了希望。

神经组织修复与再生应用研究

利用神经干细胞的特性，在神经组织再生和修复领域，可以进行两个方面的研究：在体神经干细胞动员和神经干细胞移植。用于细胞移植治疗研究的神经来源有胚胎干细胞的定向分化和脑内分离培养的神经干细胞。通过将新的细胞移植到中枢神经系统内来替代因损伤或疾病而缺失的神经细胞具有十分重要的意义。在体干细胞动员是在了解神经干细胞生物学的基础上，通过药物干预或生活环境的改善，达到促进脑损伤后内源性神经干细胞增殖和分化的目的。

无论是干细胞移植还是促进内源性神经干细胞再生，其核心问题都是：不但需要产生更多的新生神经细胞，而且这些新生的神经细胞要和脑内神经细胞建立突触联系，发挥正常的功能。神经干细胞的增殖、分化和迁移不同的阶段，有很多参与其调节的物质，包括生长因子、神经递质、激素、神经细胞因子和神经营养因子等，是一个十分复杂的过程。发现这些因子及其组合形式，以及在体内的基因表达调控机制，是理解神经干细胞的产生、正确地整合入已有的神经环路并发挥生理功能的关键。这些研究对于干预神经干细胞的增殖、定向分化和迁移，并改变病损神经组织的微环境，以保持神经干细胞定向分化，最终达到应用其治疗神经系统疾病的目的，具有十分重要的意义。可以预见，使用神经干细胞彻底治愈目前人类还束手无策的疾病，如脑出血、脑梗死、老年性痴呆和帕金森病等，将取得巨大的突破。此外，利用神经干细胞可进行基因操控和可以移植的特性，将其作为载体，还可以对许多脑疾病进行可控性基因治疗。

参 考 文 献

［1］ Takahashi K，Yamanaka S Y. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell，2006，126：663-676

[2] Takahashi K，Tanabe K，Ohnuki M，et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell，2007，131：861-872
[3] Kim J B，Zaehres H，Wu G，et al. Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. Nature，2008，454：646-651
[4] Dimos J T，Rodolfa KT，Niakan KK，et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. Science，2008，321，1218-1221
[5] Zhou Q，Brown J，Kanare A，et al. *In vivo* reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β-cells. Nature，2007，455：627-633
[6] Vierbuchen T. Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors. Nature，2010，463：1035-1042

撰稿人：[1] 刘　勇　[2] 焦建伟
1 西安交通大学
2 中国科学院神经科学研究所
审稿人： 张　旭　何　成

如何使中枢神经再生

How to Improve Neuronal Regeneration in the Central Nerve System

中枢神经损伤，不仅严重危及伤病员的生命和生活质量，而且会给患者亲属和社会带来极大的痛苦和压力。现有治疗中枢神经损伤的标准方案是大剂量激素冲击干预、神经保护药物治疗和康复训练等，但是现有结果显示，中枢神经系统损伤后再生极为困难，功能恢复极为有限。要实现中枢神经的再生与功能性修复，首先，相关神经元必须得以存活和（或）新生；其次，受损的神经轴突能够生长并穿越损伤区，并与其靶标重新形成功能性突触联系；最后，再生轴突需要重新髓鞘化以恢复其传导功能[1]。目前，对这些环节的认识非常有限。

成熟神经元内在再生能力下降以及损伤局部缺乏神经元存活所需的神经营养因子，是中枢神经系统损伤后难以再生的重要原因。给予外源性神经营养因子作为促进神经存活与再生的一种重要手段，已经被广泛认可，但是还存在一些问题。例如，如何使给予的外源性营养因子在损伤局部形成一种浓度梯度分布，从而介导神经的导向性生长，而不是简单的促进神经无序性再生？另外，神经元胞体和轴突表面均有营养因子受体，营养因子应用在哪个部位效果更好？关于成熟神经元内在再生能力有限的具体机制，目前了解十分有限。有研究发现，DLK-1 MAPK 信号通路可正向调节神经轴突的再生能力，而 PTEN/mTOR 信号通路可负向调节神经轴突的再生能力[2,3]。进一步寻找能够提高神经元内在再生能力的靶分子，实现神经元内在再生能力的有效调控，对于促进中枢神经再生与修复无疑具有重要意义。

中枢神经损伤后，局部微环境存在硫酸软骨素蛋白多糖、髓磷脂等神经再生抑制分子[1]。研究显示，通过不同手段阻断相关抑制分子的作用，能够促进神经轴突再生。然而，由于损伤局部产生的神经再生抑制分子众多，单独阻断某一抑制分子的作用，很难得到理想的治疗效果。如果能够对这些抑制分子的细胞内信号机制进行深入研究，寻找到介导这些抑制分子的共同下游关键分子，进而阻断其作用，将有可能显著提高促进神经再生的效果。

中枢神经损伤后，过度的星形胶质细胞反应性增生及炎症反应形成的胶质疤痕会对再生轴突穿越损伤区产生物理和化学障碍。现有研究表明，通过抑制胶质增生、减轻损伤局部的炎症反应或者提供神经再生的人工通道均有助于再生轴突穿越损伤区。然而，干预胶质与免疫反应的时机和程度需要慎重评估，因为活化星形胶质细胞是一把双刃剑。在损伤早期，星形胶质细胞的活化可以使损伤区局限化，避免炎症反应扩散，是有利于神经损伤修复的；到了损伤中晚期，星形胶质细胞活化

形成的疤痕则阻碍了神经再生[4~7]。此外，究竟活化的星形胶质细胞与静息的星形胶质细胞对神经元作用有何差异，还缺乏在系统性的研究。

中枢神经损伤时，在神经元受损的同时伴有寡突胶质细胞的丢失和髓鞘的变性，出现轴突的脱髓鞘。损伤过程中幸存的和再生的轴突如不能及时地完成重髓鞘化，不仅其快速传导功能得不到恢复，而且它们自身的存活也会受到极大影响[6,8]。研究表明，寡突胶质细胞对轴突的存活具有直接的支持和保护作用，而重髓鞘化则能阻止脱髓鞘相关的轴突变性的发生[9]。可见，重髓鞘化的实现与否，也将最终影响整个中枢神经再生过程的实现。神经轴突脱髓鞘后的重髓鞘化，很大程度上是发育过程中髓鞘化的重演，包括对寡突胶质前体细胞的招募、迁移、增殖、分化和最后的髓鞘形成等过程，但对其中的具体分子机制尚未阐明，尤其对寡突胶质细胞是如何识别、入鞘和缠绕轴突的，更是所知甚少[10]。寡突胶质细胞与神经轴突之间如此精细的相互作用是依靠什么样的分子机制来实现？星形胶质细胞是否对此具有支持和促进作用，机制如何？特别是在神经损伤的病理条件下，受损的轴突是否会失去某些与寡突胶质细胞正常对话的功能，或者被活化的星形胶质细胞失去正常情况下对髓鞘化过程的支持和促进，甚至反过来分泌抑制性物质作用于上述任何环节，从而导致重髓鞘化的失败？损伤区活化的小胶质细胞又将怎样改变局部的微环境从而影响到重髓鞘化的实现？损伤区的炎症反应对于寡突胶质前体细胞的招募、分化具有何种作用？这些都是有待阐明的重要问题，对它们的回答将极大帮助我们寻找促进神经损伤后轴突重髓鞘化的有效策略，从而帮助实现最终的神经再生和功能重建。

因此，深入阐明神经中枢神经再生的机制，针对性地提出促进神经再生与修复的有效策略，是基础与临床神经科学家面临的重大挑战之一。

参 考 文 献

[1] Yiu G，He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration. Nat Rev.，2006，7：617-627

[2] Park K K，Liu K，Hu Y，et al. Promoting Axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. Science，2008，322：963-966

[3] Hammarlund M，Nix P，Hauth L，et al. Axon regeneration requires a conserved MAP kinase pathway. Science，2009，323：802-806

[4] Rolls A，Shechter R，Schwartz M. The bright side of the glial scar in CNS repair. Nature，2009，10：235-241

[5] Okada S，Nakamura M，Katoh H，et al. Conditional ablation of Stat3 or Socs3 discloses a dual role for reactive astrocytes after spinal cord injury. Nature Med.，2006，12：829-834

[6] Nave K A，Trapp B D，Axon-glial signaling and the glial support of axon function，Annu. Rev. Neurosci.，2008，31：535-561

[7] Menet V，Prieto M，Privat A，et al. Axonal plasticity and functional recovery after spinal

cord injury in mice deficient in both glial fibrillary acidic protein and vimentin genes. PNAS，2003，100（15）：8999-9004

［8］ Franklin R J，French-Constant C. Remyelination in the CNS：from biology to therapy. Nat Rev Neurosci.，2008，9（11）：839-855

［9］ Irvine K A ，Blakemore W F. Remyelination protects axons from demyelination-associated axon degeneration. Brain，2008，131：1464-1477

［10］ Barres B A. The mystery and magic of glia：a perspective on their roles in health and disease. Neuron，2008，60（3）：430-440

撰稿人：何　成

第二军医大学

审稿人：郑　平　张　旭

如何促进周围神经再生

How to Promote Peripheral Nerve Regeneration

所谓周围神经再生，是指周围神经轴突或者整个神经纤维断裂后，近侧轴突断端发出的轴突枝芽循远侧溃变神经的内膜管和雪旺细胞索带长入靶区，实现靶结构神经重支配并最终实现功能恢复的过程。周围神经损伤后能够再生，但其再生能力远不及皮肤、肝脏等组织强大，需要采取措施予以增强和促进。神经再生首先是受损神经轴突的重新生长，这需要两个前提，一是相应神经元存活且代谢活动基本正常；二是存在轴突向靶部位生长的环境条件。针对这两个前提条件采取措施，是促进周围神经再生的第一步，还要促使再生神经快速生长，不断提高再生纤维的成熟度，同时要使再生纤维尽可能准确地重支配靶区。

神经元存活是神经轴突再生的首要条件。神经轴突损伤程度越重，损伤部位越靠近神经元胞体，受损神经元就越容易死亡，死亡方式以凋亡为主。神经元一旦死亡，轴突再生就丧失了基础，因而保护受损神经元免于死亡，以及调节受损神经元代谢就显得尤为重要。目前这方面的措施主要是应用神经营养因子，如神经生长因子、脑源性神经营养因子、神经营养素-3、胶质细胞系源性神经营养因子等。许多动物实验研究表明外加神经营养因子可以起到保护神经元、促进轴突再生的作用，但由于半衰期较短、不能透过血脑屏障等问题，神经营养因子在临床上尚未广泛应用。近来，研究表明一些中药提取物具有保护神经元的作用，但其作用机制有待进一步研究和阐明。

轴突靶向生长的环境条件也是神经轴突再生的重要基础。研究已经证实，周围神经沃勒变性后由雪旺细胞形成的 Büngner 带以及神经内膜管是周围神经轴突再生的重要环境条件，与神经营养因子、细胞外基质分子等共同构成周围神经再生的微环境。当神经断裂甚至发生部分组织丧失后，神经断端之间会出现缺损，这种情况下神经发生自然“愈合”的几率很小，必须予以手术修复，传统上进行无张力的神经端-端吻合或者自体神经移植。近年发展起来的组织工程化神经研究为开发自体神经移植替代物提供了可能，大量动物实验研究表明组织工程化神经可以代替自体神经修复周围神经缺损[1,2]。目前，应用生物材料制备的人工神经移植物（或称神经导管）已经开始商品化或进入临床试用[3]。但是陈旧性损伤患者，失神经肌萎缩严重的患者神经功能的修复还需结合干细胞复合治疗，这方面的基础探索性研究尚刚刚起步。

周围神经损伤后，靶区包括运动终板、感觉神经末梢特化结构等会发生失神经

变性，有效的神经再生要求在靶区不可逆变性之前实现神经重支配，这需要神经轴突尽快生长到达靶区，这对于缺损位置较高，即与神经中枢距离较近的神经损伤如臂丛损伤、坐骨神经损伤等，意义尤其重要。要实现这一点，一方面要使神经元增强代谢，增加结构蛋白的合成和转运；另一方面，还要保证适宜的轴突生长环境。对于前者，目前主要采用神经营养因子，对于后者，主要靠适当修复和应用支持细胞。研究发现，一些分子可显著影响周围神经轴突再生速度，对其进行干预能在一定程度上加快神经再生，但这还处于动物实验探讨阶段。

再生神经纤维的成熟度是影响功能恢复水平的重要因素。当新生轴突与合适的靶结构建立联系后，轴突直径不断增粗，髓鞘不断增厚，逐渐成熟和趋近正常水平。促进再生神经纤维较快成熟，将有利于提高再生质量，促进功能恢复。周围神经再生还有一个准确靶向生长的问题，这也是至今仍相当棘手的难题[4]。临床上，虽然显微外科技术已经高度精湛，但采用神经端-端吻合或者自体神经移植进行神经临床修复后的功能恢复仍不够满意[5]。当神经纤维受损较轻如轻微挤压伤时，仅仅发生轴突断裂，神经内膜管的连续性和完整性仍然保持，轴突生长的通道和微环境未受破坏，再生轴突会“忠实地”沿原来的神经内膜管长到靶部位。然而，一旦损伤较重，破坏神经内膜管，再生轴突将难免错位地长到其他神经内膜管，甚至发生“逃逸”，长到神经内膜管以外。研究表明，神经内膜管和雪旺细胞索带对轴突再生具有一定引导作用，但对不同性质的轴突并无选择性。若感觉神经轴突错误地长到骨骼肌运动终板处，或者反过来当运动神经轴突错误地长到皮肤触觉小体处，则由于轴突末梢与靶结构不匹配，再生的轴突会发生变性并最终被机体清除。虽然人们对发育过程中轴突寻路的机制已经有了一定了解，但对周围神经再生过程中轴突寻路机制的认识还相对缺乏。这方面，尚需进行深入的基础研究和探讨，为临床治疗提供科学依据。

综上所述，周围神经再生的影响因素是多方面的，促进再生需要从质、量和速度等方面入手，虽然已经找到了一些促进再生的方法，但还有许多问题没能很好解决，尚需基础和临床科研工作者携手，从分子、细胞到整体水平进行深入研究，阐明神经再生机制，并由此开发新的、更行之有效的促进周围神经再生的治疗方法。

参 考 文 献

[1] Wang X，Hu W，Cao Y，et al. Dog sciatic nerve regeneration across a 30-mm defect bridged by a chitosan/PGA artificial nerve graft. Brain，2005，128（Pt 8）：1897-1910

[2] Chalfoun C T，Wirth G A，Evans G R. Tissue engineered nerve constructs：where do we stand? J Cell Mol Med.，2006，10（2）：309-317

[3] Fan W，Gu J，Hu W，et al. Repairing a 35-mm-long median nerve defect with a chitosan/

PGA artificial nerve graft in the human：a case study. Microsurgery，2008，28（4）：238-242

［4］ Johnson E O，Zoubos A B，Soucacos P N. Regeneration and repair of peripheral nerves. Injury，2005，36 Suppl 4 S24-29

［5］ Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery：evolving neuroscientific concepts and clinical significance. J Hand Surg，2000，25（3）：391-414

撰稿人：顾晓松

南通大学

审稿人：钟春玖　镇学初

为什么会发生药物成瘾?

Why does Drug Addiction Happen?

作用于中枢神经系统的部分药物（包括中枢抑制药和中枢兴奋药）具有药物依赖性（drug dependence），这类药物在镇痛和缓解不适的同时，可使用药者感受到一种舒适或愉快感。反复使用这类药物，可使用药者的中枢神经系统发生适应性改变，表现为对药物作用的耐受、依赖，以及停药后发生极度不适与痛苦，随之为了缓解这种躯体及心理的不适而再次用药，即复发或复吸。此时，即使试图采取各种治疗或其他手段控制和摆脱药物使用，其中大部分人仍然趋向于发展为一种强迫性的用药状态，即成瘾（addiction）。因此，药物成瘾的本质是一种以中枢神经适应性或可塑性（adaptability or plasticity）改变为基础的慢性、复发性脑病[1]。

药物依赖或成瘾，具有以下特征：①有一种不可抗拒的力量强迫性地驱使成瘾者不断使用该药，并不择手段去获得它；②不断加大用药剂量；③对该药的效应产生精神依赖，也可产生躯体依赖；④由于用药，对社会、工作和娱乐活动的参与明显减少；⑤持久性用药，而不顾由此带来的健康、社会和经济上的问题[2]。简言之，药物成瘾的发生需要以下条件：①具有依赖性特性或依赖潜力的药物，其中大部分是医疗用药，如止痛药吗啡、止咳药麻黄素、麻醉药可卡因等等；②这类药物管理不当造成的滥用机会；③不法分子为了牟取暴利，利用这类药物的特性进行化学加工或合成毒品（即制毒，如用麻黄素合成冰毒），并在社会上流通（贩毒），为药物滥用者提供了毒源[3]。

国际禁毒组织公约将成瘾性药物分为三大类，①麻醉药品：包括阿片类、可卡因类和大麻类。②精神药物：包括镇静催眠药及抗焦虑药、中枢兴奋剂和致幻剂等。③其他：主要包括酒精、烟草、挥发性有机溶剂等。不同种类的成瘾性药物因其理化性质及药理学特性的不同，致使其形成药物依赖的机制也有所不同，但根本原因在于这些依赖性药物直接或间接的拟神经递质作用。这些拟神经递质主要作用于两类受体，即介导慢速突触转运的 G-蛋白偶联受体和介导快速突触转运的离子通道型受体，如阿片类药物拟神经递质为 β 内啡肽，可以结合阿片受体引起 cAMP 水平下调；苯丙胺和可卡因可以促进多巴胺、去甲肾上腺素和 5-羟色胺的释放或阻断其重摄取，从而升高突触间隙上述神经递质的水平，它们继而分别作用于各自的受体，调节其下游信号传导通路；尼古丁、乙醇、巴比妥等药物与离子通道型受体结合，使其构型发生改变并打开离子通道，允许离子进入，引起膜的极化和去极化，同时还可以激活多种蛋白质[3~6]。

近年来，人们对药物成瘾的认识经历了一个从身体依赖向精神依赖的转变。目前对成瘾的神经生物学机制研究，主要集中在成瘾性药物引起的脑内神经环路及细胞与分子水平的适应性改变，及其与成瘾者反复发作的强迫性觅药和用药行为相关性的探讨。主要观点如下：①药物成瘾致使脑内奖赏相关环路发生适应性改变。脑内的奖赏相关环路是由多个脑区和多种神经递质能神经元及其投射构成，其中最主要的是中脑边缘多巴胺（DA）系统及其投射，包括中脑腹侧背盖区（VTA）、伏核（NAc）、杏仁核（Amy）、海马（Hip）及前额叶皮质（PFC）等结构[7]。目前认为该通路是脑内编码自然奖赏和依赖性药物奖赏信息的共同神经环路，但二者存在差异：依赖性药物不仅能模拟自然奖赏的刺激信号，而且能引起超量的多巴胺释放，与伏核神经元上的受体结合，产生比自然奖赏更为强烈的愉悦感；与自然奖赏不同，药物奖赏对机体内环境的稳定或繁衍后代不仅没有作用，反而损害机体健康[8]。②药物成瘾是对奖赏相关学习、记忆环路的病理性占用。对药物滥用者来讲，当体验到药物带来的极度快感时，记忆中枢会把这种强烈的快感连同与之相关的事件联合起来并储存，这种记忆可以持续多年，甚至终生[9]。成瘾者强迫用药的神经基础涉及长时程联合记忆神经环路的适应性改变。③药物成瘾使个体对奖赏相关的冲动行为控制失调。正常情况下，当一个人考虑到获得一种奖赏快感的同时必将带来某些负面结果时，前额叶皮质会控制其他边缘系统的脑区过度激活，而决定予以放弃。药物滥用者前额叶皮质控制力被削弱，抵制用药冲动的能力大大降低，因此不顾一切可能带来的危害，强迫性觅药、用药[10]。

对于药物成瘾的细胞和分子机制，目前研究已提示，成瘾性药物引发的信号可以转化为突触和其他形式神经元功能的长时程变化，从而引起神经元编码信息的特定分子长时程改变，随之产生长时间的行为异常。上述长时程变化主要包括细胞可塑性变化和分子可塑性变化。细胞可塑性变化主要是指突触可塑性，突触可塑性是突触对其所接受信息所做出的功能和结构适应性变化的应答反应。我们将其粗略地分为突触效能和突触结构重建。用药的相关线索诱发觅药行为是与特定突触效能改变相关的，已知成瘾性药物影响突触的长时程增强（LTP）和长时程抑制（LTD），而 LTP 和 LTD 在经验依赖的突触可塑性变化中起关键作用。神经元接收到一个增强或减弱的信号，可以引起突触发生 LTP 或 LTD，改变神经元某些基因或蛋白表达，引起神经环路的重组。在依赖性药物使用后，这两种机制可发生在 VTA 的 DA 能神经元及其投射区，如 NAc、Amy 及 PFC 等。成瘾性药物在 NAc 可诱导 LTP 和 LTD，并使神经元树突形态发生相应改变，但这种记忆信息是如何编码并储存的还不是很清楚，只知道药物成瘾引发的病理性记忆最终可能涉及基因（如立早基因 $\Delta FosB$）及蛋白质（如转录因子 CREB）合成的改变。一是基因表达的长时程上调或下调，引起染色质的重排；二是基因表达和蛋白质翻译水平的变化，可导致突触与神经环路的重建[11]。

综上所述，因为药物戒断后个体对成瘾性药物持续存在的精神依赖是诱导心理渴求、导致复吸的根本原因。所以，深入研究成瘾性药物精神依赖持续存在的神经环路和分子基础是目前药物成瘾研究的热点问题。

参 考 文 献

[1] Camí J，Farrá M. Drug addition. N Engl J Med.，2003，349（10）：975-986

[2] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders，Fourth edition. Washington D C：American Psychiatric Association，1994，108-109

[3] Schultz W. Behaxioral theories and the neurophysiology of reward. Annu Rev Psychol.，2006，57：87-91

[4] Koob G F，Le Moal M. Drug addiction，dysregulation of reward and allostasisi. Neuropsychopharmacology，2001，24（2）：97-129

[5] Miller E K. The prefrontal cortex and cognitive control. Nat Rev Neurosci.，2000，1：59-65

[6] Everitt B J，Robbins T W. Neural systems of reinforcement for drug addiction：from actions to habits to compulsion. Nat Neurosci.，2005，8：1481-1489

[7] Nestler E J，Aghajanian G K. Molecular and cellular basis of addiction. Science，1997，278：58-63

[8] Kelley A E. Memory and addiction：shared neural circuitry and molecular mechanisms. Neuron，2004，44：161-179

[9] Hyman S E. Addiction：a disease of learning and memory. Am J Psychiatry.，2005，162：1414-1422

[10] Badre D，Wagner A D. Selection，intergration，and conflict monitoring：assessing the nature and generality of prefrontal cognitive control mechanisms. Neuron，2004，41：473-487

[11] Koob G F，Bloom F E. Cellular and molecular mechanism of drug dependence. Science，1988，242（4879）：715-723

撰稿人：[1]崔彩莲 [2]陆 林

1 北京大学

2 北京大学

审稿人：镇学初 钟春玖

为什么会发生慢性疼痛?

What Is the Mechanism for Chronic Pain?

慢性疼痛是一个公众健康问题，世界上超过三分之一的人口患有持续性或周期性疼痛，涉及神经损伤、偏头痛、关节炎、带状疱疹、糖尿病性神经病和癌性痛。慢性疼痛不仅可以由物理性损伤引起，而且也可由情绪和心理等因素引起。我们对许多慢性疼痛的发生和维持的机理仍不清楚，所用治疗手段常常不能有效的镇痛，同时也可能引起副作用，特别是许多镇痛药有潜在的成瘾性。目前对于慢性疼痛发生和发展的分子与细胞生物学和神经环路机理尚不十分清楚，阻碍了对更有效的慢性痛治疗方法和药物的研发。

神经系统中存在着痛觉传导通路，背根神经节中的初级感觉神经元的外周神经纤维在皮肤等组织中形成伤害性感受器[1,2]，感受伤害性刺激，并形成电冲动传向脊髓背角中的神经环路进行信息整合，进而向大脑感觉皮层传递信息。目前，已知许多神经递质/调质（如兴奋性神经递质谷氨酸、神经肽P物质和一氧化氮等）和受体，以及钠离子通道（如电压门控钠离子通道等）和钙离子通道等，参与脊髓背角中初级传入神经终末对伤害性信息的传递[3]，脊髓内的阿片肽及其受体[4,5]等抑制性机制对痛觉信息传递起重要的调节作用。在完整的感觉通路上形成的伤害性感觉及生理性痛觉对机体起保护和防御性作用，而在受损伤的感觉通路上形成的神经源性疼痛和炎性疼痛等慢性疼痛则完全是病理性的，其机理不同于生理性痛觉。

在早期的痛机理研究中，人们常常用生理性痛觉或急性疼痛的知识去解释慢性疼痛的形成机理。近年来，对慢性疼痛的分子及细胞机制和神经可塑性的研究取得了显著进展，逐渐发现了外周神经损伤、慢性炎症和肿瘤等病变可以引起外周组织-背根神经节-脊髓痛觉传导通路中发生神经元结构、神经元间连接、神经递质、受体和通道等变化，极有可能通过增加这些神经元及神经环路的兴奋性和降低抑制性调控机制引起疼痛[3]。例如，利用动物模型人们已发现外周神经损伤可以造成背根节神经元表达许多在正常生理条件下表达很少的神经递/调质、受体和离子通道，它们参与多种异常的神经信息传递、慢性疼痛的形成和维持[6,7]。另外，外周神经损伤还通过激活脊髓内胶质细胞等机制进一步增强中枢的痛觉敏化过程。痛觉的分子细胞生物学机理研究还表明，外周神经损伤引起的神经源性痛的机理不同于慢性炎症引起的疼痛，后者往往增加正常生理条件下存在、与痛觉信息传递相关的神经递质/调质、受体和离子通道等分子的表达，同时通过受体磷酸化等细胞机制造成痛觉神经环路兴奋性增高。虽然通过大规模基因筛选等方法建立了一些慢性痛动物

模型背根节及脊髓背角的基因表达谱[8]，并筛选出许多差异表达基因和与疼痛信息传递相关的分子，但是并不明确不同种类的慢性疼痛是否具有共性的致痛或镇痛的相关分子和信号通路，以及对脊髓和大脑中痛觉传导通路和神经环路的结构和功能的影响；也尚未明确哪些分子在慢性疼痛信息传递中起关键作用，从而可以成为研发镇痛药的靶分子。因此，最核心的问题是要阐明痛觉传导相关神经元兴奋性的调控机制，特别是神经递质/调质受体和离子通道的调控机理。

与此同时，人们也注意到仅用动物模型进行研究还不足以理解人类的慢性疼痛机理，疼痛临床研究结果也促进了痛机理研究，特别是对遗传性痛觉过敏或缺失家族的基因定位与突变研究，以及临床药理学等研究进展，对了解慢性疼痛的机理具有重要的意义[9]。有趣的是，目前临床上使用的镇痛药基本上是在临床应用中发现的，而非来源于机理研究中的发现，说明基础研究与临床研究相结合是解决慢性疼痛问题的重要环节。这样的研究方式可以发现一些在人类痛觉调控中起关键性作用的基因和分子，以及人类痛信息传递的结构与分子、细胞机制，结合动物模型等方法综合评价被发现分子的组织、细胞、功能和药理作用的特异性，提供一批重要的药物靶点基因，为临床上发展新的治疗手段和新的高效镇痛药物提供理论依据。

痛觉信息传到大脑，通过记忆等认知过程，最终产生意识。然而，长期以来人们对痛觉的学习与记忆等认知过程还缺乏基本的认识，虽然最近已开展了对脑皮层是如何处理痛觉信息的研究[10]，也开始应用脑成像等技术在认知水平揭示机体如何体验痛，但是对痛觉认知过程的了解还处于初始阶段。此外，在慢性痛情况下中枢神经环路和相应的信号分子极有可能发生明显改变，形成对异常疼痛的持久性记忆，导致慢性疼痛，因此阐明痛觉传导相关中枢神经元兴奋性的调控机制也将有助于镇痛治疗方法和药物的研发。

参 考 文 献

［1］ Julius D，Basbaum A I. Molecular mechanisms of nociception. Nature，2001，413，203-210

［2］ Woolf C J，Ma Q. Nociceptors-noxious stimulus detectors. Neuron，2007，55：353-364

［3］ Woolf C J，Salter M W. Neuronal plasticity：increasing the gain in pain. Science，2000，288：1765-1769

［4］ Janecka A，Fichna J，Janecki T. Opioid receptors and their ligands. Curr Top Med Chem.，2004，4：1-17

［5］ Zhang X，Bao L，Guan J S. Role of delivery and trafficking of delta-opioid peptide receptors in opioid analgesia and tolerance. Trends Pharmacol Sci，2006，27：324-329.

［6］ Hokfelt T，Zhang X，Wiesenfeld-Hallin Z. Messenger plasticity in primary sensory neurons following axotomy and its functional implications. Trends Neurosci，1994，17：22-30

［7］ Hokfelt T G M，Zhang X，Xu X J，et al. Central consequences of peripheral nerve damage. In：Wall and Melzack's Textbook of Pain，947-960. Eds. McMahon S B，Koltzenburg M. New

York：Elsevier. 2005

[8] Zhang X，Xiao H S. Gene array analysis to determine the components of neuropathic pain signaling. Curr Opin Mol Ther.，2005，7：532-537

[9] Chen A L，Chen T J，Waite R L，et al. Hypothesizing that brain reward circuitry genes are genetic antecedents of pain sensitivity and critical diagnostic and pharmacogenomic treatment targets for chronic pain conditions. Med Hypotheses，2009，72：14-22

[10] Neugebauer V，Li W，Bird G C，et al. The amygdala and persistent pain. Neuroscientist，2004，10：221-234

撰稿人：张　旭

中国科学院神经科学研究所

审稿人：镇学初　钟春玖

揭示针刺麻醉与针刺镇痛的机理

Mechanisms of Acupuncture Anesthesia and Acupuncture Analgesia

针刺麻醉出现于20世纪50年代，兴起于60年代，盛行于70年代。1972年美国总统尼克松访华期间，参观了针刺麻醉手术，促使了美国开始认识针刺和针刺麻醉，针刺开始走向世界。1960年针刺麻醉首次应用于肺叶切除术，1966年我国卫生部召开了第一届全国针麻工作会议，1979年召开了全国针麻学术讨论会，对20世纪50年代以来针麻镇痛的临床应用范围和机制研究进行了总结，至此针刺穴位的镇痛作用得以肯定。1986年中国针灸学会针刺麻醉研究会成立。目前临床应用针麻的国家有30多个，对针麻原理的研究在其他国家和地区也在进行，如美国、日本、韩国、瑞典、加拿大、新加坡等。

据报道，至1979年，全国针刺麻醉手术总例数增至200万例，手术种类接近100种，几乎涉及各科常见手术。20世纪80年代以后，针麻热渐趋衰微，但一些单位对针麻的理论探讨和试验从未间断，如北京大学医学部、复旦大学上海医学院、中国中医科学院针灸研究所等。近年针麻手术和理论研究又渐趋活跃，上海的曙光医院、仁济医院、华山医院和北京的天坛医院、中国中医科学院广安门医院陆续开展了针麻手术，针刺镇痛机理的研究又开始受到科技部“973”计划等项目在内的资助。

综述文献报道发现，目前单纯使用针刺麻醉仅限于一些小手术，如拔牙、扁桃体切除术等。涉及疾病谱范围更广、多系统、多器官的针麻手术则使用的是针药复合麻醉。针药复合麻醉是针刺诱导下使用静脉麻醉剂进行手术。如目前受到科技部“973”计划资助的清醒手术开颅手术、开胸心脏手术、甲状腺切除手术等针刺麻醉研究项目，都是采用针药复合麻醉。

针刺麻醉中，针刺的作用主要体现在两个方面：针刺镇痛和针刺保护作用。研究发现，针刺麻醉中针刺能辅助镇痛，并且减少麻醉药用量，病人苏醒迅速，同时针刺对机体心、脑、肺等重要脏器起到保护作用，降低应激状态。

针刺镇痛机理的研究成果得到了国内外较高的认可[1]。疼痛发生机制是一个复杂的问题，注定了针刺镇痛机制研究的复杂性。外周组织在受到炎性伤害性刺激、损伤之后，局部感受器兴奋，兴奋的信号通过脊髓背角[2]，向上向脑内传递，经过丘脑的中继，最后到达大脑皮层形成痛感觉。针刺可以在许多环节上发挥镇痛作用。针刺能够调节外周穴位组织的生化改变，引起血液中多种与痛觉相关的化学物质的变化，如乙酰胆碱、去甲肾上腺素、5-羟色胺等。神经系统在针刺镇痛中发挥

重要的作用。研究发现，针刺能够动员神经系统内不同镇痛物质，比如内源性阿片肽。近年来，人们的研究发现，针刺能够激活脑内多个脑区，提示针刺镇痛过程中，不同的脑区可能都会起到作用。

也有学者认为，针刺能够抑制外周感受器的放电，针刺镇痛是“以痛制痛”[3]。针刺引起的组织损伤是一种痛刺激，提插捻转的电针是更强的痛刺激。当针刺的穴位与痛区邻近，两者的传入信息能在脊髓节段发生会聚时，轻手法针刺或低强度电针也能奏效，表现出穴位特异性。临床所用的针刺手法提插捻转，或病人能忍耐的最大电针强度多已超过痛阈和纤维阈值，是损伤性刺激，可充分兴奋Ⅲ（Aδ）和Ⅳ（C）类传入纤维，激活脑内镇痛系统的痛负反馈调制机制，引起全身广泛强而持久的镇痛作用。

在针麻过程中，针刺对机体起到保护作用，这也是针麻中针刺起作用的重要方面。研究发现，针刺对重要脏器的功能均表现出明显的保护作用，包括肺功能、脑功能、心脏功能、肾功能等。针药复合麻醉可部分改善手术引起的免疫功能抑制，明显抑制患者术中血液儿茶酚胺升高，抑制体外循环内直视手术中肾上腺素、促肾上腺皮质激素（ACTH）、皮质醇反应和血糖升高等。

这些研究说明，针刺麻醉是针刺镇痛与多途径机体保护功能的复合的结果。

针刺麻醉与针刺镇痛机制的研究，目前尚要面对一些问题[4]，例如：针刺麻醉手术中针刺的镇痛不全；针刺麻醉与针刺镇痛的作用机制需要继续深入研究；针刺与麻醉药之间相互作用的机制研究。另外，针刺可以动员神经系统内的多种神经递质，但这些神经递质在神经系统内定位的核团乃至细胞定位如何，这些神经核团或者细胞内的神经递质，又如何在一个复杂的神经网络中起作用，仍然不清楚。针刺镇痛和针刺麻醉机制的研究，将有助于解决针刺本身的问题，同时有助于解决疼痛的问题。

另外，针刺麻醉与针刺镇痛要涉及到穴位与经络的本质问题。临床针麻手术中，取穴原则并不统一，比如有循经取穴、远道取穴、阿是穴、耳穴、按神经节段选穴、手术周围局部取穴等多种方法。针刺的方法也不尽统一，有电针刺激和手针刺激。在目前国内报道的针刺复合麻醉中，大多数都采用了电针的方式，但在电针刺激方面，也有韩氏穴位神经刺激仪、G8605 型电针麻仪、G6805-2A 型针麻仪、B1701 型脉冲电麻仪、57-6 型电脉冲医疗刺激仪等。电针参数差别也较大，频率有 2～100Hz、2～8Hz、2Hz、100Hz，波型有用疏密波、正脉冲 50 V 和负脉冲 35V、连续波等，刺激强度有 10～15mA，或者以患者耐受为度等。需要临床研究给出标准的方案。

总之，针刺镇痛与针刺麻醉机理的研究既是一个老话题，又是一个新课题。对针刺作用机制的研究，不仅贡献于我国的传统医学，同时也将对现代神经科学的研究具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Han J S. Neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. Trends in Neuroscience，2003，26：17-22

[2] Guo G X，Liu F Y，Qu X X，et al. Long-term synaptic plasticity in the spinal dorsal horn and its modulation by electroacupuncture in rats with neuropathic pain. Experimental Neurology，2007，208：323-332

[3] 刘乡．以痛制痛——针刺镇痛的基本神经机制．科学通报，2001，46：609-616

[4] 刘堂艾，杨华元，褚立希，等．关于针刺麻醉的现状及分析．中国针灸，2007，12：56-59

撰稿人： 万 有

北京大学

审稿人： 镇学初 钟春玖 张 旭

神经甾体在脑内有何作用?

What Is the Role of Neurosteroids in the Brain?

“甾体”作为一个医学术语，对普通人来说可能比较陌生，然而在我们的日常生活中，几乎每个人都曾经接触过甾体类药物。而在我们的机体内，甾体类激素则更是时刻发挥着非常重要的作用。人人都有过发高热的经历，而很多时候，为了先缓解症状，医生会给我们开一点甾体类药物。当我们得了一些皮肤疾病，如皮肤过敏，甚至自身免疫性疾病等，医生也会用到甾体类激素。我们熟知的地塞米松与其他糖皮质激素一样，具有抗炎、抗内毒素、抑制免疫、抗休克及增强应激反应等强大药理作用，故广泛应用于多种疾病的治疗。地塞米松磷酸钠注射剂更是抢救垂危病人时不可缺少的急救药品。在我们将甾体当作药物使用的同时，甾体激素在我们体内也同样发挥着至关重要的作用，如性激素在人类男性和女性的差别中起着重要作用。同样，也正是因为我们体内肾上腺可分泌大量甾体激素，我们才能够在遇到危险的时候产生一系列的应激反应，维持机体的平衡。

随着研究工作的进展，科学工作者发现人体内除了脑外组织器官存在甾体外，在大脑内也有甾体存在。在刚发现脑内有甾体存在时，科学工作者根据甾体的脂溶性，推测脑内甾体可能是从外周随血流扩散进入大脑的。然而，随后的实验表明，即使将外周所有能分泌甾体激素的器官全部切除，仍然能在脑内检测到甾体。这一结果显然否定了原来的假说，提示大脑能够靠自己合成甾体！而且，在脑内已发现了合成甾体的完整体系及所合成的各种甾体[1]。为此，这些由神经组织合成的甾体具有一个与外周甾体激素不同的名字——神经甾体[2]。

神经甾体的发现开拓了甾体类化合物在生命体内作用研究的新领域，并越来越显示出对其研究的重要性。很多证据表明神经甾体在脑功能中，特别是在高级脑功能如学习记忆、认知、情绪中具有重要作用，而且有资料显示脑中神经甾体浓度的波动（升高和降低）与许多精神疾病如抑郁症、焦虑症和精神分裂症等密切相关[3-13]。然而，神经甾体对脑功能的影响很复杂，可以是脑功能的增强，也可能是抑制，可以表现为纠正病理状态，也可能是一个致病因子，这就需要进一步研究神经甾体影响脑功能的分子和细胞学机制。

认识神经甾体对脑功能的作用，从分子和细胞水平揭示神经甾体影响脑功能的本质，从而为提高神经甾体的有益作用，防止、纠正其不利作用提供实验依据。但目前对神经甾体在脑内作用的分子和细胞机制还有许多重要问题有待研究，例如，已有实验证明神经甾体可由神经细胞和神经胶质细胞合成，这两类细胞合成的神经

甾体在功能上是否有差别？有哪些生理和病理因素可促进神经甾体合成和释放？其意义是什么？在发育和衰老过程中，脑内神经甾体浓度均有明显变化，其作用是什么？神经甾体的种类很多，且都有活性，它们在脑内的作用是否有分工？一种神经甾体往往有多个分子作用靶点，其意义是什么？神经甾体与脑内其他活性分子相比，有哪些特点？神经甾体在高级脑功能如学习记忆、认知、情绪等中具有重要作用，它是通过单点还是多点影响高级脑功能的，其神经环路基础是什么？神经甾体参与精神疾病如抑郁症、焦虑症和精神分裂症的分子机制是什么？这些问题的研究对揭示神经甾体在脑内的作用，对从新的角度认识脑功能和脑疾病具有重要意义。

参 考 文 献

[1] Stoffel-Wagner B. Neurosteroid biosynthesis in the human brain and its clinical implications. Ann. N. Y. Acad. Sci.，2003，1007：64-78

[2] Baulieu E E. Neurosteroids：a novel function of the brain. Psychoneuroendocrinology，1998，23：963-987

[3] Do Rego J L. Jae Ys，Delphine B，et al. Neurosteroid biosynthesis：enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides. Front Neuroendocrinol.，2009，30：259-301

[4] Melcangi R C，Mensah-Nyagan A G. Neurosteroids：measurement and pathophysiologic relevance. Neurochem. Int.，2008，52：503-505

[5] Serra M，Pisu M G，Mostallino M C，et al. Changes in neuroactive steroid content during social isolation stress modulate GABAA receptor plasticity and function. Brain Res. Rev.，2008，57：520-530

[6] Mellon S H. Neurosteroid regulation of central nervous system development. Pharmacol. Ther. 2007，116：107-124

[7] Girdler S S，Klatzkin R. Neurosteroids in the context of stress：implications for depressive disorders. Pharmacol. Ther.，2007，116：125-139

[8] Charalampopoulos I，Alexaki V I，Tsatsanis C，et al. Neurosteroids as endogenous inhibitors of neuronal cell apoptosis in aging. Ann. N. Y. Acad. Sci.，2006，1088：139-152

[9] Shulman Y，Tibbo P G. Neuroactive steroids in schizophrenia. Can. J. Psychiatry.，2005，50：695-702

[10] Dubrovsky B O. Steroids，neuroactive steroids and neurosteroids in psychopathology. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.，2005，29：169-192

[11] Vallee M，George O，Vitiello S，et al. New insights into the role of neuroactive steroids in cognitive aging. Exp. Gerontol.，2004，39：1695-1704

[12] Pisu M G，Serra M. Neurosteroids and neuroactive drugs in mental disorders. Life Sci.，2004，74：3181-3197

［13］ Zheng P. Neuroactive steroid regulation of neurotransmitter release in the CNS：action，mechanism and possible significance. Prog. Neurobiol.，2009，89：134-152

撰稿人：董　毅　郑　平

复旦大学

审稿人：张　旭

神经毒素的秘密

Secrets of Neurotoxins

神经毒素（neurotoxin）泛指能影响神经系统正常机能，造成神经信息编码紊乱，信息传导终止或信息传输停顿，产生病理性细胞反应与肌体功能异常的一类分子，其中包括自然界有毒生物物种诸如陆生的蛇、蝎、蜂、蜘蛛，海生的海葵、芋螺等动物毒腺分泌的肽类物质；由桑科植物箭毒木（又名火药树）、茄科野生直立木质草本植物曼陀罗（又名枫茄花、狗核桃、万桃花、洋金花、醉心花、闹羊花）、百合科植物的藜芦和乌头等有毒植物中提炼的多环、杂环或萜类生物碱等有机化合物等（图1）[1]。然而，天然神经毒素的结构多样性、功能复杂性、离体活性和整体效应的吻合、对靶标的选择性和敏感性及其相互作用的分子机制、被波及的神经信号通路，神经信息的重组修复以及药用的可能性与空间等仍充满层层未解的迷惑。

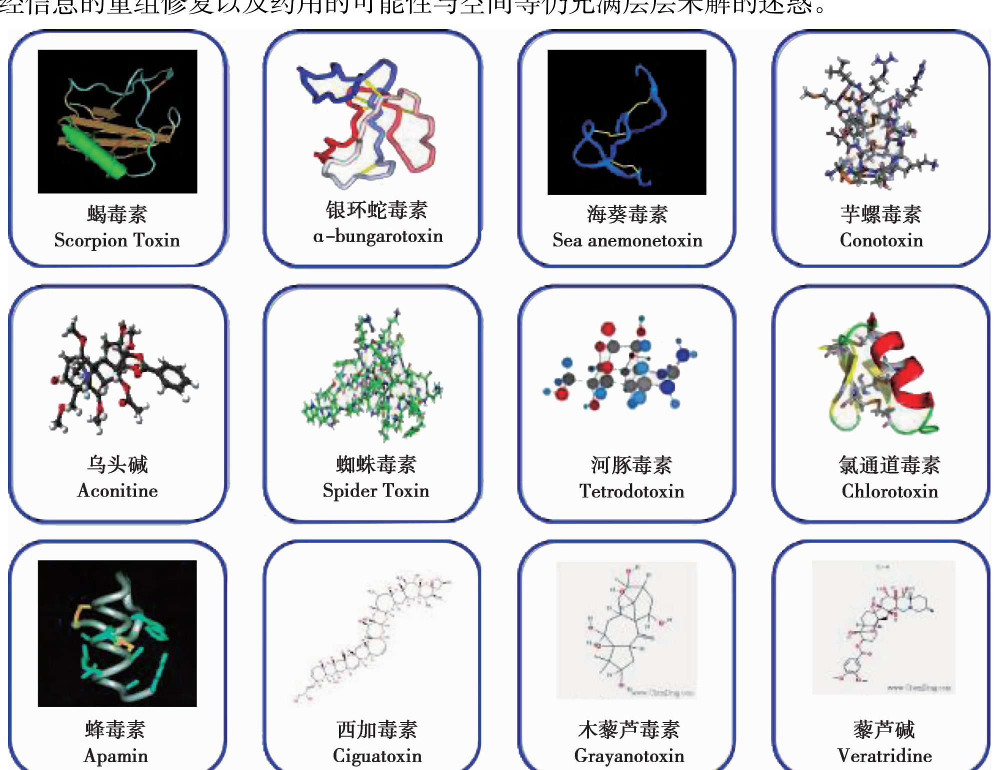


图 1　部分天然神经毒素的分子结构

天然神经毒素分子结构的多样性和复杂性决定了其毒理功能效应与特异性。以著名的产自于我国南方银环蛇的神经毒素为例，一类为既作用于神经-肌肉接头的突触前膜，又兼有磷脂酶 A2 活性的多肽被统称为 β-型银环蛇毒素（β-bungarotoxin）。我国江浙产蝮蛇的毒性也以该类毒素（agkistrodontoxin）为主。另一类为作用于神经-肌肉接头的突触后膜，可特异地与后膜上的胆碱能受体结合，阻遏运动神经末梢乙酰胆碱的动态释放过程，导致骨骼肌松弛的多肽被统称为 α-型银环蛇毒素（α-bungarotoxin）。从非洲黑曼巴蛇毒液中分离纯化的一个被命名为 Fasciculin 神经毒素的多肽则是迄今在自然界中被发现的最强的乙酰胆碱酶抑制剂[2]。

膜离子通道已被确定是众多天然神经毒素作用的易感靶标，但神经毒素对靶通道的药理结合与调制方式迥异。目前已证实仅在膜钠离子通道蛋白上已发现了至少 6 个天然神经毒素的特异结合靶位点。这些天然神经毒素或者如同塞子般地阻塞了钠通道的膜外孔道，其代表性毒素为河豚毒素（tetrodotoxin，简称 TTX）；或者与钠通道的膜外结构域连接环或镶嵌在膜内的微结构域特异结合，调制通道的生理功能，或激活通道的活化过程，或延长通道的失活化过程，从而改变通道对离子的通透性，影响细胞动作电位的产生与传导，干扰神经信号传递，异化细胞的兴奋性[3]。其代表性毒素：长链蝎毒素多肽（scorpion neurotoxic polypeptide）、肽类海葵毒素（anemonetoxin）、肽类蜘蛛毒素（spider neurotoxic peptide）、木藜芦毒素（grayanotoxin）、藜芦碱（veratridine）、乌头碱（aconitine）、蛙皮毒素（batracotoxin），以及西加毒素（ciguatoxin）和短裸甲藻毒素（brevetoxins）等。此外，另有相当数量的天然生物神经毒素被发现可特异性阻断膜 K^+、Ca^{2+}、Cl^- 通道的生理功能，它们大多为由 20～50 个氨基酸残基组成的短链多肽。例如，命名为 dendrotoxin 的非洲曼巴蛇毒素被认为是不可多得的特异性电压门控 K^+ 通道亚型阻断剂；国际试剂市场商品化的 charybdotoxin、iberiotoxin、kaliotoxin、scyllatoxin 等短链蝎毒素多肽已是当下研究大电导钙激活钾通道（BKca）和相关电压门控 K^+ 通道亚型（Kv）的必选特异性探针工具物；蜂毒素 apamin 是一个特异阻断中枢神经系统小电导钙激活钾通道（SKca）的小分子多肽；芋螺毒素 ϖ-conotoxin MVIIA由 25 个氨基酸残基组成，可特异地拮抗神经系统 *N*-型钙离子通道，已被研发为治疗临床剧痛药物（药品名 Prialt）；另一小分子蝎毒素多肽 chlorotoxin 有望成为鉴定脑肿瘤氯离子通道分布与表达的示踪剂等。利用特异性抗昆虫蝎神经毒素的基因构建新型通道型生物杀虫剂一度曾是学界为之振奋的美景。以独特的蝎神经毒素多肽致密分子骨架设计稀缺的通道特异性新探针分子仍是当下学界不离不舍的孜孜追求[4]。

随着膜通道亚型分类知识的积累，生物神经毒素对不同类型膜通道敏感亲和力和药理精细调制远超出人们的预估。换言之，生物神经毒素对靶通道的特异性和敏感性不仅取决于毒素的给药方式、浓度和毒素的结构特征，也受制于靶通道的活动

状态、靶位点微结构域的微妙变异和细胞内外环境等多重因素。对此，河豚毒素（TTX）可谓典型，它可选择性地专一识别膜钠离子通道，对脑型钠通道（亚型-1、-2 和-3）、骨骼肌钠通道（亚型-4）以及周边神经元钠通道亚型-6 和-7 均高度敏感，却对心肌型钠通道（亚型-5）和外周神经元钠通道亚型-8 和 9 失敏，前者统称为 TTX 敏感的钠通道，后者统称为 TTX 不敏感的钠通道。相似的特性也可鲜明地被蝎神经毒素验证，BmK Ⅰ是东亚钳蝎的主要毒性多肽成分，属特异性 Na^+ 通道位点 3 调制剂家族。整体动物测试水平上，无论腹腔注射或脑室给药，BmK Ⅰ均可有效地致使哺乳类动物或昆虫物种的实验动物痉挛抽搐，麻痹死亡，强烈地抑制 DRG 神经元 TTX 敏感和 TTX 不敏感钠通道的失活化过程，增强峰钠电流，对 TTX 敏感钠通道（亚型-6 和-7）的调制效应似乎更强于对 TTX 不敏感钠通道（亚型-8 和-9）的调制。高剂量的 BmK Ⅰ也可有效地调制心肌型钠通道（亚型-5）。然而，有别于以 AaH Ⅱ为代表的经典特异性钠通道位点 3 调制剂的药理活性，BmK Ⅰ不仅缺失对离体蝎自身神经纤微钠通道受体的调制能力，也难以检测到其与大鼠脑突触体膜钠通道受体（脑型钠通道亚型-1、-2 和-3）的离体相互结合能力。只在高浓度给药的前提下，BmK Ⅰ方有能力诱导异源表达的脑型钠通道亚型-2产生持续性钠电流。相对而言，AaH Ⅱ则可与大鼠脑突触体膜钠通道受体高亲和力地结合，却缺乏对昆虫物种的毒性效应。或许因 T-型钙通道在分子进化上的亲源性关系更接近于电压门控钠通道的缘故，另一被命名为 kurtoxin 的蝎毒素多肽，尽管其分子序列与骨架结构与钠通道位点 3 调制剂家族高度同源，却可有效地调制 T-型钙通道的电生理动力学参数。东亚钳蝎毒素 BmK AS 与同一品种蝎毒中分离获得的 BmP09 多肽间共享 99.5％的序列结构一致性，仅因 BmP09 在 C 端一个巯基化 Met-66 的变异，导致了 BmP09 演变为一个强 BKca 通道抑制剂[5]。蝎神经毒素这一共享结构相似性，却在药理功能上微妙分化的非寻常特性也屡屡在其他物种天然神经毒素得到印证，无疑是个仍有待攻克的未解之谜。

第 58 位正电荷残基曾被认定是 α-型蝎神经毒素多肽的唯一活性中心，该部位正电荷残基的变异可导致毒素的活性几乎完全丧失。然而，对比两个东亚钳蝎神经毒素多肽 BmK Ⅰ和 BmK Ⅱ的序列结构，两者间仅有两个天然残基变异：BmK Ⅰ-59-Val 被 BmK Ⅱ-59-Iie 取代和 BmK Ⅰ-62-Lys 被 BmK Ⅱ-62-Asn 取代，生物毒性却相差 7 倍，显然，第 62 位正电荷残基也参与了蝎神经毒素多肽的活性中心[6]。由此，对蝎神经毒素多肽活性中心的理解应持“由点到面”的立体概念。

在离体标本实验条件下，神经毒素施加剂量的增加往往会导致其与靶标的非特异性结合。Martentoxin 是个新型 BKca 通道阻断剂[7]，但高剂量给药时，则可有效地抑制大鼠海马神经元的峰钠电流[8]。此外，值得一提的是，有些神经毒素的生物活性和药理效应呈单纯的线性剂量依赖关系，有些则呈非线性剂量依赖关系。被命名为 BmK IT2 和 BmK AS 的两类东亚钳蝎毒素多肽均归属于 β 型蝎神经毒素家

族，即钠通道位点4调制剂家族，它们均可有效地改善或缓解疼痛或癫痫病理模型的动物行为学特征[9]，显著地压抑初级传入神经元的峰钠电流，减少其动作电位的发放频率。然而，新近的研究结果发现，BmK AS在低浓度和高浓度两个给药剂量下，均可使异源表达脑型钠通道1.2α亚型的非洲爪蟾卵母细胞钠电流活化和失活化的电压依赖性去极化，但在中间浓度的给药剂量下，其参数却被超极化。同样类似的U型剂量效应也在ND7-23细胞上被验证。研究BmK AS的非线性药理调制特征，或许可归结于该类毒素有别于其他类型毒素在钠通道的单一结合位点模式，即BmK AS在钠通道靶器上有两个结合位点：一个为高亲和力低容量，另一个则是低亲和力高容量[10]。

常言道，一个把掌拍不响。神经毒素独具的功能特异性决定了相对聚焦视野的靶受体，意味着毒素与受体犹如一对‘矛与盾’的互动辩证关系。因此，解密神经毒素，不仅需逐一弄清其化学与基因编码的分子结构，并定性其药理特征，更需从靶受体的认定、应答能力、分子敏感的结构域和被涉及的关键性残基、动态活动、糖基化与磷酸化程度、细胞活动与动物行为学异化特征等多因素，多层次、全方位地加以深度探究，方能全面深刻地解开神经毒素的功效，化毒为宝。

参 考 文 献

[1] De Lima ME. Animal Toxins: State of the Art; Perspectives of health and technology. Editora UFMG，2009

[2] Marchot P，Khelif A，Ji Y H，et al. Binding of ^{125}I-Fasciculin to rat brain acetylcholinesterase: The complex still binds diisopropyl fluorphosphate. J Biol. Chem.，1993，268（17）：12458-12467

[3] Catterall W A. Structure and function of voltage-gated ion channels. Annu Rev Biochem.，1995，64：493-531

[4] De Lima M E，Figueiredo S G，Pimenta A M，et al. Peptides of arachnid venoms with insecticidal activity targeting sodium channels. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.，2007，146（1-2）：264-279

[5] Yao J，Chen X，Li H，et al. BmP09，a "long chain" scorpion peptide blocker of BK channels. J Biol. Chem.，2005，280（15）：14819-14828

[6] Ji YH，Mansuelle P，Terakawa S，et al. Two neurotoxins（BmK I and BmK II）from the venom of scorpion *Buthus martensi* Karsch: purification，amino acid sequences and assessment of specific activity. Toxicon，1996，34（9）：987-1001

[7] Ricardo C R，de la Vega，Enrique Merino，et al. Possani. Novel interactions between K^+ channels and scorpion toxins. TRENDS in Pharmacological Sciences，2005，280：15，14819-14828

[8] Shi J，He H Q，Zhao R，et al. Inhibition of martentoxin on neuronal BK channel subtype（$\alpha_1+\beta_4$）：implications for a novel interaction model. Biophysical J.，2008，94：3706-3713

[9] Zhao R，Zhang X Y，Yang J，et al. Anticonvulsant effect of BmK IT2，a sodium channel-specific neurotoxin，in rat models of epilepsy. Brit. J. Pharmacol.，2008，154：1116-1124

[10] Zhu M M，Tao J，Tan M，et al. U-shaped dose-dependent effects of BmK AS，a unique scorpion polypeptide toxin，on voltage-gated sodium channels. Brit. J. Pharmacol.，2009，158：1895-1903

撰稿人：刘志睿　姜　峰　陶　杰　翁春春　吉永华

上海大学

审稿人：镇学初　张　旭

能否用疫苗治疗慢性脑病

Development of Vaccines for Chronic Brain Diseases

近 300 年的临床实践证明，免疫接种技术是控制和消灭若干传染性疾病无可争议的最有效措施之一。例如，全球接种痘苗使天花绝迹；破伤风类毒素的使用使第二次世界大战中破伤风的发病率和死亡率远远低于第一次世界大战；世界卫生组织推行儿童免疫接种计划，使小儿麻痹及麻疹等传染病接近被消灭边缘。免疫接种技术不仅在控制鼠疫、炭疽、霍乱等烈性传染病，而且在肝炎、流感、狂犬病等多发、常见的细菌或病毒性疾病的防治中，也都发挥着不容忽视的重要作用。

神经系统变性病是一大类严重危害人类健康的神经系统脑慢性疾病，包括阿尔茨海默症（AD）、帕金森病（PD）和多发性硬化症（MS）等。尽管病因学研究提示病毒感染可能与其起病相关，但至今仍存疑问：没有分离和检测到病毒感染的直接证据以及仅极少数病毒感染者发现起病。由此可见，病毒疫苗至少目前还不适合神经系统变性病。

凡具有抗原性接种于机体可产生特异的自动免疫力，并可抵御感染病的发生或流行，总称为疫苗。既往把以细菌制备的制剂称为“菌苗”；而把病毒及立克次氏体制备的制剂称为“疫苗”；以细菌代谢产物——毒素制备的制剂称为“类毒素”。随着现代科学技术的发展，有效抗原的纯化和提取，基因重组抗原甚至日后将可能发展的人工合成抗原等，难以抗原类别命名。因此，按国际惯用名称，凡自动制剂统称为“疫苗”。

随着基础研究的深入，Carrel 等 1997 年首次系统提出构象病的概念，既从分子水平来解释了许多具有相似发病机制的疾病如阿尔茨海默病、帕金森病、路易体病、朊蛋白脑病及亨廷顿氏病等[1]，病理表现可见蛋白质的异常聚集和错误折叠。由此，人们开始以蛋白质为靶点探索神经变性疾病的治疗成为研究的热点，进而开始了蛋白质抗原疫苗的研制。

按照慢性神经变性病的病理特点，据文献报道目前正在进行或将要进行的疫苗有如下类型。

（1）修饰肽疫苗　修饰肽疫苗起始与治疗免疫介导的炎性脱髓鞘多发性硬化。基于中枢神经髓鞘蛋白片段反应性 T 细胞激活和侵润是疾病发生的最主要因素，利用髓鞘蛋白修饰片段可以诱导体内的免疫耐受，达到治疗的效果。实验动物的结果非常理想，各种髓鞘蛋白片段的修饰肽可在多种实验模型中通过诱导反应性 T

细胞免疫耐受抑制疾病的发生和发展。然而，随后的临床试验没有获得成功。主要的原因是因为动物模型的致病抗原是明确的，而人类疾病的致病抗原不清楚，或者重要性不够，或者个体致病抗原存在差异性。

（2）多肽疫苗　多肽疫苗可以刺激机体产生相应抗体，通过与 Aβ 或 α-syn 抗原发生反应，激活巨噬细胞或小胶质细胞等清除抗原，从而达到清除 Aβ 或 α-syn 沉积的目的。2002 年英国爱尔兰公司研制了一种命名为 AN1792AD 的疫苗，Ⅰ期临床试验未发现明显副反应，但应用于临床Ⅱ期试验时，约 6％的受试病人出现了脑膜脑炎而终止试验，经病理学证实脑血管周围有 CD4＋或 CD8＋T 细胞浸润。目前人们正在深入研究这些侵润细胞与脑内炎症反应的联系。

（3）短肽疫苗　由于上述 Aβ 42 多肽疫苗可引起 T 细胞介导的自身免疫反应性脑膜脑炎，不少学者开始考虑 Aβ 多肽疫苗的结构与免疫原性的关系，发现 Aβ 多肽疫苗具有 T 细胞和 B 细胞表位，而引起 Aβ 多肽疫苗副作用的主要是 T 细胞表位。为减轻 Aβ 多肽疫苗引起的副作用，有学者通过预先设计抗原表位来减少细胞免疫反应和炎症反应。人们设计了一种只具有 B 细胞表位而无 T 细胞表位的 Aβ 免疫原，该免疫原在野生鼠和转基因鼠内诱导产生了抗 Aβ 特异性抗体，但无 Aβ 特异性细胞免疫，可以减少 T 细胞侵润引发的脑内炎症反应。如果相对分子量太小，不足以引起必要的抗体免疫反应，可以结合一个载体蛋白（carrier protein）提高抗原的免疫原性。

（4）核酸疫苗　核酸疫苗技术其最大的优点是可以通过内源性抗原递呈系统，诱发机体特异性体液免疫和细胞免疫，以达到预防和治疗疾病的目的。与传统疫苗相比有许多优点：免疫反应特异、全面，免疫效应持久；与重组蛋白质相比，核酸疫苗产生的抗原蛋白的空间构象与天然蛋白更接近，更接近自然感染状态，免疫原性更强。2005 年 Mosliah 等首次用 α-syn 重组蛋白疫苗免疫转基因帕金森病小鼠，取得了较好的效果[2]。可能 α-syn 核酸疫苗进行帕金森病的治疗研究极具前景[3]。

疫苗的反应有如下类型。

（1）免疫耐受　疫苗接种引发免疫反应，刺激 T 细胞激活，而免疫耐受则是诱导 T 细胞失能，从而抑制过度的免疫反应和由此产生的免疫损伤。其免疫耐受的形成取决于特殊类型的细胞，如耐受性树突状细胞或调节性 T 细胞。

（2）主动免疫　主动免疫的疫苗可以引出对靶抗原的免疫反应，从而清除其聚集或沉淀。其免疫反应的性质取决于抗原和佐剂的特性，可以同时产生体液和细胞免疫反应。

（3）被动免疫　被动免疫疫苗主要采用特异性抗体，导致相应的体液免疫反应，并没有过度的免疫激活。

疫苗的给予有如下途径。

（1）皮下给予　主要的途径，可以诱导很好的细胞和体液免疫反应。

（2）静脉给予　较少使用，主要用于被动免疫疫苗。

（3）口服给予　免疫反应诱导并不强烈，主要为体液免疫即以抗体产生为主，但可以介导 T 细胞免疫耐受。

（4）鼻腔给予　效果类似口服途径，但所用极小剂量即可达到口服途径的效果。

目前面临的主要的科学问题与挑战是：

（1）疾病发生发展的关键因素确认　神经系统变性病是一组非单一因素所致的疾病。疫苗治疗的一个关键点是确认致病原或重要的治病因素。首先，也有研究认为就阿尔茨海默症而言，老年斑在正常老年死检者脑中也可见，并与疾病的相关性较小。另外，神经纤维缠结可见于大部分阿尔茨海默症患者的神经元内，包含 Tau 蛋白。但是，Tau 蛋白可与微管蛋白结合，而微管蛋白又是细胞正常功能所必备。因此针对这些结构的免疫反应可能将是危险的。其次，个体的异质性问题，特别是散发性病例，我们不知道 Aβ 沉积、神经纤维缠结或老年斑在致病中的权重。帕金森病和多发性硬化也有类似的问题有待进一步了解和澄清。第三，尽管像阿尔茨海默症和帕金森病等神经性变性病不被认为是经典的炎症或者免疫介导的疾病，但在一定程度上炎症免疫对这一病理过程起了重要作用，因此疫苗还应该关注免疫调节。

（2）周围免疫反应和中枢免疫反应的考虑　近年来人们一直在考虑周围免疫反应如何影响中枢[4]？实验和临床资料显示中枢神经系统的免疫激活通常是有害的，而增强全身的免疫反应对中枢神经系统疾病又可显现治疗益处。然而，矛盾的结果也不断出现。一般而言，疫苗的目的是要建立一个抗原特异性 T 和 B 细胞免疫反应。或许最成功的治疗中枢神经系统变性病的疫苗是 Glatiramer acetate，但却通过抑制反应性 T 细胞，诱导保护性 T 细胞，达到治疗阿尔茨海默病、帕金森病和多发性硬化症的效果，且副作用甚小[5-9]。所以，人们一直在问中枢神经元变性的修复到底需要哪种免疫反应？Glatiramer acetate 同时对一组神经性变性病有效，提示它们并不针对特定的蛋白质异常聚集和错误折叠，而可能是作用在引起这些蛋白异常的诱因或随后的环节上。

（3）潜在的免疫（疫苗）损害　疫苗引起的特异性免疫炎性反应可能具有治疗价值，但非特异性 T 细胞和抗体的产生可能引起脑和神经元损伤。脑有自己的免疫系统，但与全身免疫反应密切关联，脑内免疫激活后可以产生大量炎性介质，导致级联反应。人们有待进一步了解这些不良反应应该归因于抗体、T 细胞还是小胶质细胞，或者抗原本身的特性或佐剂的选择，从而选择性诱导有治疗价值的疫苗免疫反应。

（4）多联疫苗　正如神经系统变性病是一组非单一因素所致的疾病，不仅蛋

白质的异常聚集和错误折叠在疾病发生发展中的直接作用有待深入了解，就蛋白质的异常聚集和错误折叠的前因后果也没有完全明白，单一抗原设计的治疗性疫苗，其效果有限是可想而知的，因此针对不同致病元素的多联疫苗设计应在考虑之列。

总之，从20世纪初，人们利用抗体试图治疗神经系统变性病100多年以来，尽管屡有挫折和不尽如人意，但始终有希望的前景。尽管还有很多理论问题有待解答，但新的发现和新的视点吸引人们不断探索。慢性脑疾病的疫苗的深入研制有赖于神经科学、免疫学、疫苗学、生物工程技术以及临床医学的共同进步。基于在细胞和分子层面对脑的认识，基于免疫化学与免疫工程方面已有的技术累积，我们有理由相信慢性脑疾病的疫苗将作为全新的治疗战略成为疫苗学发展新的里程碑和现代医学进步的新传奇。无论其主观目标何时实现，慢性脑疾病的疫苗研制客观上都将成为一种新的手段不断推动相关领域的更进一步发展，其集成性、空白性、引导性与挑战性都与基因治疗和神经干细胞技术堪有一比[10]。

参考文献

[1] Carrel R W，Lomas D A. Conformational disease. Lancet，1997，350：134-138

[2] Masliah E，Rockenstein E，Adame A. Effects of alpha-synuclein immunization in a mouse model of Parkinson's disease. Neuron. 2005，46：857-868

[3] Lambracht-Washington D，Qu B X，Fu M，et al. DNA beta-amyloid（1-42）trimer immunization for Alzheimer disease in a wild-type mouse model. JAMA，2009，302：1796-1802

[4] Popovich P G，Longbrake E E. Can the immune system be harnessed to repair the CNS? Nat Rev Neurosci.，2008，9：481-493

[5] Angelov D N，Waibel S，Guntinas-Lichius O，et al. Therapeutic vaccine for acute and chronic motor neuron diseases：implications for amyotrophic lateral sclerosis. Proc Natl Acad Sci USA，2003，100：4790-4795

[6] Duda P W，Schmied M C，Cook S L，et al. Glatiramer acetate（Copaxone）induces degenerate，Th2-polarized immune responses in patients with multiple sclerosis. J Clin Invest，2000，105：967-976

[7] Butovsky O，Koronyo-Hamaoui M，Kunis G，et al. Glatiramer acetate fights against Alzheimer's disease by inducing dendritic-like microglia expressing insulin-like growth factor 1. Proc Natl Acad Sci USA，2006，103：11784-11789

[8] Frenkel D，Maron R，Burt D S，et al. Nasal vaccination with a proteosome-based adjuvant and glatiramer acetate clears beta-amyloid in a mouse model of Alzheimer disease. J Clin Invest，2005，115：2423-2433

[9] Benner E J，Mosley R L，Destache C J，et al. Therapeutic immunization protects dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci USA，2004，101：9435-9440

[10] Barrett A D，Kayed R，Jackson G R，et al. New vaccine developmemnt for chronic brain disease. Neuropsychopharmacology，2010，35：354

撰稿人：[1]孙长凯 [2]肖保国
1 大连医科大学
2 复旦大学
审稿人：钟春玖 张 旭

如何进行脑功能的活体检查

How to Investigate the Brain Function In Vivo

人的大脑由近一百亿个神经细胞以特定的方式联系在一起，组成巨大的神经网络，在各种生理活动中起着中枢支配作用。经由形态学、解剖学、组织胚胎学的研究，我们现在对大脑的发育和结构已经基本了解，但是，大脑在行使不同功能的时候，神经环路的构成、神经环路之间的联系如何，不同类型的神经细胞之间是如何工作的，相互之间又有怎样的联系？明确解释上述问题，可以帮助我们深入理解脑和神经环路信息加工和处理的工作原理，进而理解人类高级精神活动规律。至今为止，人们尚没有成熟的通过直观的、可视的方法加以观察研究特定神经环路编码规律，理解脑功能的工具，尤其是在活体对象上。

对大脑功能探讨的过程中，经历了黑匣-形态结构与功能-可视的过程，人们对大脑的探讨从一无所知，发展到现在能够利用先进技术对大脑功能和神经元的活动进行可视化的观察。

目前已经广泛应用的脑成像技术是想通过最新技术使得神经科学家可以“看到活体脑的内部”。而在这些技术中，能够通过脑成像技术对脑功能进行检测的技术包括：①正电子发射断层扫描术（positron emission tomography，PET）。扫描仪通过检测被注射入或被吸入的放射物可以产生脑图像。经常使用的放射性物质包括氧、氟利昂、碳和氮，这些物质进入血液后被输送到相应脑区，例如氧和葡萄糖就会积聚在新陈代谢较活跃的脑区，当放射性物质衰变时会发射出一个中子和一个正电子，当正电子撞击电子时，两者都被破坏，放射出两道伽马射线，伽马射线检测器记录下发出伽马射线的脑区。这种方法提供了脑的功能视图。②磁共振成像（magnetic resonance imaging，MRI）是运用磁场原理来产生体内活动的图像。在MRI 扫描中，由一个探测器负责记录身体内氢原子对强磁场的反应，之后，通过计算机程序产生一个三维的大脑或躯体的图像。体内任何一个两维平面的物体都能在计算机对 MRI 数据的选择中被找到并形成一个图像，然后在屏幕上显示出来。这样，研究者就仿佛在一个透明的三维空间中观察大脑的内部状态。功能磁共振成像（functional magnetic resonance imaging，fMRI）是 MRI 的一种运用和深入发展，主要是用 MRI 的方法研究人脑和神经系统的功能，通过磁共振信号的测定来反映血氧饱和度及血流量，间接反映脑的能量消耗，在一定程度上能够反映神经细胞的活动，间接达到功能成像的目的[1]。③血管造影术。在染料被注入血液中后，使用一束 X 射线对注入的染料进行监测，从而提供脑血管图像。④现有的动物在

体多电极记录技术亦可以实现在体的脑功能研究，但是存在着不能弄清不同神经细胞类型之间联系规律的局限，也不能全面理解在体脑功能状态。

以上的方法都是在某一方面对脑功能进行间接的观察，虽然部分实现了脑功能的活体检查目的，但仅局限于整体，而且存在着空间分辨率低的局限性，因此不能通过以上方法真正理解神经网络及神经网络的构成，仍然没有实现活体观察的真正目的。

在神经网络和神经回路的研究过程中，理论上，我们可将行使同一功能的细胞做为同一类型的细胞，并构成相关的功能性神经回路。如何在整个神经网络中，区分出同一类型的细胞就成为研究神经回路的关键。近年来，随着基因工程技术的不断进步，我们可在分子水平上对基因进行操作，将外源基因（如荧光蛋白基因、视蛋白基因、泵蛋白基因等）通过体外重组后导入受体细胞内，外源基因通过在受体细胞内复制、转录、翻译后，可作为基因标记物对受体细胞进行细胞水平上的功能归类。在实际操作过程中，我们通过筛选细胞特异性启动子，可使外源基因的表达局限于特定细胞上。外源基因标记物和外源基因启动子的特异性相结合，可作为重要的工具来实现神经回路和神经网络的功能性研究[2]。

动物活体双光子显微镜系统在神经科学研究中的应用，对神经回路的特征研究有重大的推动意义[3]。动物在体穿戴式显微成像系统使得研究动物神经细胞的活动与动物行为特征之间的关系成为可能[4]。基因工程和显微技术的结合，实现了对脑内特定神经细胞活动的基本监测，极大的推动了大脑功能的活体检查，使人类实现了对大脑功能的可视化观察。

微创显微成像系统（minimally invasive microscopic imaging），基于显微成像技术的发展而诞生，它使用一根直径 1mm 左右的带光学头的光纤传像束（imaging bundle）深入到动物脑组织内，通过外连的激发光源对该处表达有荧光蛋白的细胞进行激发，随后受激发荧光通过同一光路进入传像束，荧光光子被光电探测器捕获并放大，经过模数转换输入电脑，形成图像，由此进行实时地、细胞水平上地原位成像观察[5]。这种方法提供一种活体细胞的直接、快速、准确的检测方法；结合基因工程技术（可标记特定类型细胞），可以一直监测动物个体的同类细胞。但是单一的微创显微成像系统只能对靶点细胞进行实时观察，即只能提取图像信息，不能针对在体的特定类型的细胞群进行刺激，以观察刺激后靶点或其下游关联细胞的信号改变，即不能用于研究神经网络的功能性连接。于是需要找到一种可以精确刺激特定某类神经细胞的技术。光感基因神经调控技术（optogenetics）是将光感基因（如 *ChR 2* 或 *NpHR*）导入至特定细胞（不同类型的神经细胞等），利用蓝光或黄光对其刺激，使阳离子或阴离子内流引起该细胞兴奋或抑制[6]，达到调节特定细胞回路、调控与疾病发生相关神经回路而可能实现治疗疾病的目的[7]，该技术拥有时间（毫秒级）和空间（单类细胞）上的高分辨率[8]。于是开发一种新的动物在体神

经回路水平上的研究方法成为可能：将光感基因神经调控技术与微创显微成像系统结合，通过另一条光路给予转入光感基因 *ChR 2* 或 *NpHR* 的细胞光刺激后，同时向其下游靶细胞导入荧光指示剂（如应用钙离子指示剂或应用遗传学方法），通过显微成像系统即可将该细胞的状态变化持续反映在图像上，由此来研究不同神经细胞之间的功能联系。

然而，如何采用这些方法理解大脑特定区域的特定神经细胞与其脑区功能之间的关系，理解特定行为功能与特定神经环路的关系，理解脑功能的各种特定神经环路功能结构，理解神经精神系统疾病中异常神经环路信息传递规律，疾病发生和治疗机理等，还需要整合其他技术逐步实现。

参 考 文 献

[1] 唐孝威 . 脑功能成像 . 安徽：中国科学技术大学出版社 . 1999

[2] Luo L Q，Callaway E M，Svoboda K. Genetic dissection of neural circuits. Neuron，2008，57：634-660

[3] Majewska A K，Newton J R，Sur M. Remodeling of synaptic structure in sensory cortical areas *in vivo*. J Neurosci.，2006，26（11）：3021-3029

[4] Brian A W，Laurie D B，Eric T et al. Advances in light microscopy for neuroscience. Annu Rev Neurosci.，2009，32：435

[5] Flusberg B A，Cocker E D，Piyawattanametha W，et al. Fiber-optic fluorescence imaging. Nature Methods，2005，2：941-950

[6] Boyden E S，Zhang F，Bamberg E，et al. Millisecond-time scale，genetically targeted optical control of neural activity. Nature Neuroscience，2005，8：1263-1268

[7] Aravanis A M，Wang L P，Zhang F，et al. An optical neural interface：*in vivo* control of rodent motor cortex with integrated fiberoptic and optogenetic technology. J Neural Eng，2007，4（3）：S143-156

[8] Zhang F，Wang L P，Brauner M，et al. Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. Nature，2007，446（7136）：633-639

撰稿人：魏晓菲　王立平

中国科学院深圳先进技术研究院

审稿人：郑　平　何　成

通过植入脑内的集成电路芯片控制神经活动

A Way to Control Nerve by IC Chip Implanted into Brain

人与动物的神经系统比自动控制系统和计算机网络系统要复杂许多倍，但神经系统中传递信息的信号也是电信号——编码电信号。因此，完全可以将电路设计到神经系统中[1]，用来记录和分析神经系统信息[2]；或者将人造的编码电信号施加到神经系统中，用于控制动物的行为[3-5]；或应用于医治疾病和患者的康复[6,7]。一种新的医疗方法和技术通常都会被最先应用于动物，实验成功后再转化为医学应用技术。植入动物体（或脑）内的集成电路（IC）芯片的研发也不例外，植入体（或脑）内的 IC 芯片研究已被越来越多的国家所关注，并已取得一定的成果，但远不成熟，还有很多的难题有待解决。

将集成电路芯片植入体内或脑内的必要性

以动物机器人为例，所谓“动物机器人”，就是以活体动物作为“机器人‘本体’”，用编码电信号控制其大脑神经系统，以实现对动物运动行为的控制，从而研制出以活体动物为本体的“动物型机器人”，也称“动物机器人”或“机器人动物”。目前在国内外公开发表的动物机器人成功案例中，其控制系统几乎都是外置式的[3,4]。这种外置式控制系统的目前的状况如下。

（1）基于外置式控制系统的动物机器人制作过程

以鸟类和哺乳动物为例，先通过手术将其头顶部的部分颅骨暴露出来，再按目前“永久性”固定微电极的通用方法，对颅骨表面实施严格清理后，借助立体定位仪将微电极植入脑内，用细软的导线将微电极连接到微型插座的插针上，再用牙科水泥将电极和插座固定于颅骨上，如图 1 所示。实验时，将控制系统模块通过接插件与电极连接，连接方式有两种：用控制系统模块上的插头直接插于图 1 的插座上（见图 2），或背在背上通过细软的导线与插座相连。通过控制系统发出编码电信号来刺激动物的神经位点组，实现对动物运动行为的控制。

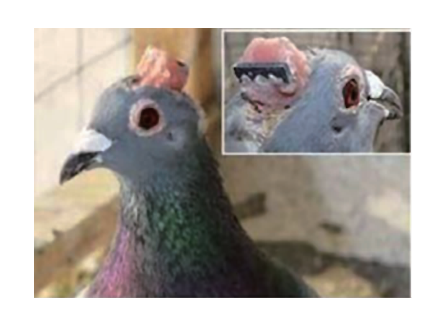


图 1　机器人鸽颅骨上的牙科水泥块

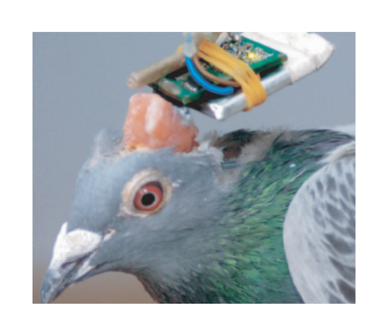


图 2　控制系统模块插在插座上

（2）外置式控制系统的缺陷

然而，这种外置式控制系统，在动物机器人研发实践中逐渐显现出严重缺陷，以致直接阻碍动物机器人的实用化；同时，也将阻碍该技术向医疗康复应用方向的移植。其最主要缺陷包括：用牙科水泥或其他材料固定电极的办法而形成的“座”（图 1 中的粉色突起）易脱落，从而造成“动物机器人”的功能完全丧失。实践证明，不论手术时把颅骨表面清理得如何干净，颅骨上迟早都会（由外围向里）长出一层肉膜，当这层肉膜把“座”与颅骨隔开后，“座”也就脱落了（据统计，多则一年半、少则二个月，它们都会脱落）。究其根源，颅骨本身是活组织，它自身的生理功能决定其会以“座”外围皮肤为“根”，逐步向“座”下延伸，直至在“座”下长满肉膜，所以“座”的脱落是不可避免的。脱落后，虽然该动物仍能正常生活，但“动物机器人”却复原成普通动物。此外，外置式控制器一般或背在动物身上或固定于头顶，从而在头上形成一个更高的突起，这个突起不仅影响动物的运动，更破坏了动物机器人的最大优势——隐蔽性。

总之，外置式控制系统的缺陷已经阻碍了动物机器人向实用化发展。未来的控制器必然是植入式的专用芯片，这是动物机器人发展和实用化的必然结果，同时也是将此类技术应用于人类医疗康复方面的前提条件。

将集成电路芯片植入体内需要研究的课题和待解决的难题

将集成电路（IC）芯片植入人和动物体内、特别是脑内的理论和技术，是个涉及多学科交叉的难题。要实现将集成电路芯片植入体内，至少需要研究的课题和待解决的难题有：

（1）电路的设计与实现

这种集成电路必须具备通用性，所谓“通用性”，是指它能适用于某几类动物的应用、而不是某类应用，否则它就没有市场价值。它必须具有类似于（功能较少的）单片微机功能。通用性的主要特点包括：

功能的通用性　以动物机器人用 IC 芯片为例，它应能适用于多种动物、多种运动行为的“制导原理”。这就要求它求具有足够数量的输入／输出通道；足够强的编程能力，满足产生多种所需的编码信号的需求；要求芯片产生的编码信号的参数可实时调整和无线程控。

足够宽的电气特性和环境特性　特别是对于植入大脑内的芯片，因为脑的不同部位，由于脑组织的阻抗特性不同、电极间距离不同，则要求芯片有足够宽的电特性范围；植入体内芯片周围组织形成的环境不同，电极需要在体或脑内工作的时间长短不同、目的不同、选用的电极材料不同等，因此，芯片应有足够的环境适应性。

通用性设计的难点并不在于芯片设计本身，而在于需要满足动物机器人控制器设计功能的合理性、电特性和环境特性合理性，否则它将不会有市场。而要做到这些，需要大量的研究性实验、分析与数据积累和丰富的实践经验。

无线通讯电路的设计与实现体内芯片需与外界进行信息交换[8-10]，以及时地调整其工作状态，所以芯片需设计有无线通讯功能。由于芯片尺寸的限制，所以天线的尺寸与通讯距离及通讯的可靠性的矛盾，将是芯片设计的一个难题。

（2）电源供给的设计与实现

植入体内芯片只能采用非接触式供给电能方式[11]，或借助动物体温和肌肉运动转换为电能的办法。当前这些技术并不成熟，这都需要大量的实验和研究。所以，电源供给和芯片低功耗设计也是一个关键点和难点。

（3）生物相容性和材料问题

由于人和动物体的排异性及体液对材料的腐蚀性比我们想像的要严重许多，所以将集成芯片植入体内后，为保证芯片长期、稳定地工作于动物体内，必须进行生物相容性相关的研究，涉及到：微电子植入器件相关材料的表面改性、电极材料选取等。虽然它是个很多领域都需研究的共性难题，但也是此类研究的一个难点。

（4）器件密封封闭设计

芯片的密封密闭性是十分重要的，它不仅涉及材料选取，而且涉及封装工艺，一旦有丝毫泄漏，芯片会立即失效，甚至带来严重事故。

（5）电极与芯片连接的设计与工艺

由于芯片体积很小，而它却又要与多个电极及某些部件连接，并且这些连接同样需要解决生物相容性和材料选取问题、连接工艺问题等，特别是这些操作需在手术中解决，这就为工艺和可靠性带来重大挑战。

总之，植入体内的集成电路芯片的研制是一个多学科交叉的难题，但又是一个有战略价值的综合性难题，要想突破它，必须进行切实、深入的研究，方能解决。

参 考 文 献

［1］ Timothy J K，Timothy R L. An implantable electrical interface for *in vivo* studies of the

neuromuscular system. J. Neurosci. Methods，1996，70：27-32
[2] Mavoori J，Jackson A，Diorio C，et al. An autonomous implantable computer for neural recording and stimulation in unrestrained primates. J. Neurosci. Methods，2005，148：71-77
[3] Talwar S K，Xu S，Hawley E S，et al. Rat navigation guided by remote control. Nature，2002，417（6884）：37-38
[4] Shaohua X，Sanjiv K T，Emerson S H，et al. A multi-channel telemetry system for brain microstimulation in freely roaming animals. J. Neurosci. Methods，2004，133：57-63
[5] Sato H. Berry C W，Casey B E，et al. A cyborg beetle：insect flight control through an implantable，tetherless microsystem. 21st IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems（MEMS 2008），JW Marriott Starr Pass Tucson，Arizona，USA，January，2008，13-17：164-167
[6] Robin S，Sawan M，Harvey J F，et al. A new implantable microstimulator dedicated to selective stimulation of the bladder. in Proc. 19th Ann. Conf.，IEEE-EMBS，Chicago，1997，1792-1795
[7] Lozano A M，Mahant N. Deep brain stimulation surgery for Parkinson's disease：mechanisms and consequences. Parkinsonism Relat Disord.，2004. 10（Suppl 1）：49-57
[8] SAWAN M，Robin S，Provost B，et al. A wireless implantable electrical stimulator based on two FPGAs. ICECS，1996，1092-1095
[9] Mouine J，Ammar K A miniaturized implantable spinal cord microstimulator for treating intractable chronic pain. in Proc. 1st Ann. Conf. on Microtechnologies in Medicine and Biology，IEEE-EMBS，Lyon，FRANCE，2000，630-634
[10] Arabi K，Sawan M A monolithic miniaturized programmable implant for neuromuscular stimulation，in Proc. 17th Ann. Conf.，IEEE-EMBC and CMBEC，1995，1131-1132
[11] Mounaiaposm F，Sawan M. Implantable electronic device dedicated to neural stimulation and sensing. CAMP 2006. International Workshop on Volume，Issue. 2006，196-197

撰稿人： 苏学成 杨俊卿
山东科技大学
审稿人： 郑 平 张 旭

生物技术科学

糖可作为免疫调节剂或作为抗原，其调节免疫及抗原活性的根本区别为何？

What's the Fundamental Difference between Carbohydrate as Immunomodulator and Antigen?

长期以来人们普遍认为自然界中的糖类（如动、植物及微生物多糖）具有对动物免疫调节的功能，但糖类本身的免疫性（抗原活性）却很弱。而许多研究发现生物体内一些糖（甚至是一个糖）的改变会引起强烈的免疫反应。

众所周知，输血是最常见的一种医学急救措施。输血有关的血型糖类抗原与其相应的抗体会产生强烈的免疫效应。研究人员经过半个多世纪对血型的研究发现了很多类型的血型，其中有不少抗原类物质是复合糖类。其中与输血关系最密切的是ABO（H）血型[1]。这种血型是1900年由Landsteiner发现的。这一发现在第一次世界大战期间对抢救伤员做出了重大贡献。Landsteiner因发现ABO血型而获得1930年诺贝尔生理学或医学奖。经过许多免疫学家包括Landsteiner和Watkins等半个多世纪的研究，1960年，Witkins确定了ABO（H）的抗原决定簇是糖类，并测定了有关糖类的结构。根据人体内红细胞表面糖蛋白中糖链的非还原端局部结构不同，人类的血型可以分为O型、A型、B型和AB型四种类型。它们抗原决定簇的基本结构是糖链非还原端的二糖，即*N*-乙酰氨基葡萄糖基-L-岩藻糖基。如果仅有这两个糖基，则为H抗原，它的携带者血型为O型；如果在此二糖的*N*-乙酰氨基葡萄糖基上再连上一个*N*-乙酰氨基半乳糖基或半乳糖基，就分别成了A或B抗原，其携带者的血型分别是A型和B型；同时兼有A和B两种抗原的个体，就是AB型血型。因此血红细胞表面糖链非还原端的二糖上是否存在*N*-乙酰氨基半乳糖基或半乳糖残基决定着ABO血型的差异（图1）。

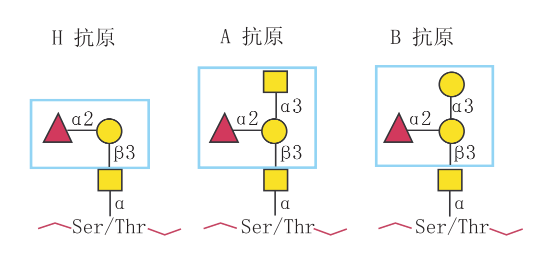


图1　ABO血型在红细胞表面糖蛋白上糖链结构的差异[2]

（半乳糖　*N*-乙酰氨基半乳糖　岩藻糖）

由于A型的个体具有抗B型抗原的抗体，反之亦然。而AB血型者同时具有抗A抗原和抗B抗原的抗体，O型的个体不存在任何抗体。这样A型的个体，一旦接受了B型血液，血液中的抗B抗原的抗体就与B型血中的B抗原相互作用，立即出现免疫反应，导致休克，不及时处理就会出现严重的后果。这些排异反应的根本原因是机体中存在着对“非我”物质的抗体。A型抗原簇和B型抗原簇相差的仅是一个糖基，A型为*N*-乙酰氨基半乳糖，B型为半乳糖。仔细分析，差异仅是糖基C2上的取代基，A型对应的是*N*-乙酰氨基，B型则是羟基。然而为何一个单糖残基的改变会引起具有如此差异的免疫反应？如此小的糖基何以能作为抗原？它们的抗体是与生俱来的，那么这些抗体是在生物演化的什么阶段，以怎样的机制产生的？

机体中存在的一些可溶性分子和天生免疫相关的细胞（例如巨噬细胞和树突状细胞）表面的凝集素（一类能特异地与某些糖类结合的蛋白质家族）都可以与微生物表面的一些多糖结合，进而介导和调节细胞免疫。经典的补体激活剂是抗原和抗体结合后形成的复合物。如今发现一些微生物的甘露糖形成的聚糖也可以通过与血液中可溶性的甘露糖结合蛋白（MBL）结合，激活补体系统。这些凝集素不仅存在于人类等高等动物中，在低等生物中也发现了相似的凝集素。在低等生物中还发现了一些人类没有的、与天生免疫相关的凝集素，例如L-岩藻糖/甘露糖特异结合的F类凝集素[3]。在一些免疫相关细胞的表面也存在着多种多样的凝集素，特别是C类动物凝集素[3]。巨噬细胞表面的甘露糖结合蛋白（MR）是C类动物凝集素超家族的成员。巨噬细胞通过MR与微生物表面的甘露聚糖结合，导致其对微生物的吞噬。与此同时，巨噬细胞被激活，释放出不同的细胞因子，调节由B和T淋巴细胞为主角的适应性细胞免疫过程。树突细胞表面的CD-SIGN特异地与含半乳糖的糖链结合。树突细胞和巨噬细胞表面均有的树突凝素（dectin）可与真菌表面的β-1，3-葡聚糖结合。当前对模式识别受体（pattern recognition receptor，PRR）的研究是一个免疫学中的热点。在巨噬细胞和树突细胞等细胞的表面存在着多种Toll样受体（TLR），迄今至少发现有10种[4]，其中包括：识别细菌表面糖脂和脂肽的TLR-1，识别肽聚糖和脂磷壁质酸的TLR-2，识别脂多糖、病毒双链RNA的TLR-3和TLR-4，识别细菌鞭毛的TLR-5，识别单链RNA的TLR-7和识别未甲基化的DNA的TLR-9。值得指出的是，研究表明TLR-9还能识别没有碱基的DNA骨架。总体而言，TLR所识别的分子多数是来自微生物的含有糖类的分子。

免疫学中的两个重大事件是免疫球蛋白基因的研究和蛋白质抗原呈递机制的阐明。然而，目前所谓的抗原呈递几乎是蛋白质抗原呈递的同义。其实，很多蛋白质上都存在着糖链。但是目前却认为，糖蛋白是糖链被切除后，蛋白质抗原才被呈递的，因此糖蛋白中糖链部分的抗体是如何产生的，目前还知之甚少。

如果与输血相关的抗体是天生的，而机体还无时无刻不在接触来自体外的各种各样的糖类物质。自然界存在几十种以上的单糖，而人类等高等动物体内仅存在着少数几种单糖（如常见的10种），而低等生物，尤其是微生物却合成了许多特异又古怪的单糖。这些糖类进入人体后，都是“非我”的异物，也就形成了形形色色的抗原。同时机体中的异常变化也会产生原先机体中没有或含量极少的糖链，从而由“自我”转化成“非我”物质。这就导致了糖类抗原的种类远远超过蛋白质/肽类的抗原[5]。在进行糖类的基础和应用研究中，也在不断人为地制备并得到了多种多样的抗糖类的抗体。因为抗糖抗体不仅是研究机体中的糖类作用的有力工具，也被用作治疗一些疾病的药物[6]。这样就引出了一个更为普遍的问题，作为糖类的抗原是如何呈递的？抗糖抗体是如何产生的？由于糖类是普遍存在的，因此不同的糖类和糖复合物产生抗体的机制是否相同？是否有一种基本的原则？

作为抗原的糖类都应有对应的抗体。在机体中多数的抗糖抗体是诱导产生的，而有一些却是在机体中自然存在的。许多微生物的糖类抗原也是人们研制和开发治疗用疫苗的对象。人们早就利用微生物表面的糖类作为抗原（例如利用细菌的多糖制作疫苗）。微生物多糖的抗原呈递，目前主要是以小鼠为模型。研究结果表明，有关简单多糖抗原的呈递发生在脾脏边缘区（marginal zone）特定的部位。而且它们的呈递不依赖T细胞。在简单多糖的抗原呈递中，补体系统起到了一定的作用，但是一般认为其抗原性较弱。为此，在制备糖类疫苗时，常将糖类看成是半抗原，将它们与蛋白质偶联，以增强其抗原性。为何与蛋白质偶联后可以提高简单糖类抗原性？这也是一个尚未解答的悬案。

通常植物多糖被称为免疫调节剂，而非抗原。对动物而言植物多糖应是异物，它们也应归属于抗原类物质。然而一些（简单）多糖作为免疫调节剂，其作用的靶点是天生免疫相关的细胞和体系。天生免疫广泛存在于多种类型的物种中，它不仅在高等生物中存在，而且也发现于低等生物中。在低等生物中，因为没有抗体系统，天生免疫可能是其免疫功能的主要实施者。而在高等生物中，天生免疫不仅是机体防卫的第一道防线，而且参与和介导了适应性的细胞免疫过程。相比微生物来源的多糖，植物多糖与免疫的关系研究相对较少。虽然有很多报道指出植物多糖可以提高机体的免疫能力，但其机制并不清楚。植物多糖作为异物分子可提高动物机体免疫能力，然而不同结构来源的多糖产生免疫效应的机制是否相同？其免疫过程是否存在“个性”？

糖免疫学已成为糖生物学和免疫学交叉产生的边缘学科[7]。而糖可作为免疫调节剂或作为抗原，其调节免疫及抗原活性的过程区别是什么？这是一个长期以来没有解决，又亟待解决的难题。

参 考 文 献

［1］ Schenkel-Brunner H. Blood Group Antigen. Kamerling JP. Ed. Comprehensive Glycoscience：

from Chemistry to Systems Biology. Elsevier Science，2007，3：343-372

［2］ Varki A，et al. Essentials of Glycobiology. New York：Cold Spring Harbor Laboratory Press，2008：238

［3］ Vasta GR，et al. Lectin Repertoires in Invertbrates and Ectothermic Vertebrates：Their Roles in Embryogenesis and Innate Immunity. Kamerling JP. Ed. Comprehensive Glycoscience：from Chemistry to Systems Biology. Elsevier Science，2007，4：17-35

［4］ Akira S，et al. Pathogen Recognition and Innate Immunity Cell，2006，124（4）：783-801

［5］ Bishop JR，Gangneux P. Evolution of Carbohydrate Antigens-Microbial Forces Shaping Host Glycomes. Glycobiology，2007，17（5）：23-34

［6］ Satoh M，Shitara K. Therapeutic Antibodies. Kamerling JP. Ed. Comprehensive Glycoscience：from Chemistry to Systems Biology. Elsevier Science，2007，4：643-662

［7］ 王克夷．糖免疫学. 生命的化学，2009，29（3）：306-314

撰稿人：[1] 王克夷　[2] 杜昱光

1 中国科学院上海生命科学院生物化学和细胞生物学研究所

2 中国科学院大连化学物理研究所

审稿人： 金　城　查锡良

生物大分子基本结构单元的手性由来

Origin of Biomacromolecule Structure Chirality

生物大分子的一个重要特点是具有手性（即不对称性）。如构成蛋白质类的元件是氨基酸，蛋白质中常见的 20 种氨基酸都是 L-型构型。而 DNA 和其转录产物 RNA 骨架中的脱氧核糖和核糖却是 D-型构型。研究发现高等生物机体中存在的单糖组分（如葡萄糖等）也是 D-型，仅有极少数的 L-型单糖存在。

为何目前的蛋白质世界是由 L-型氨基酸，而不是 D-型氨基酸构成的？利用肽类合成技术可以合成全部由 D-型氨基酸构成的蛋白质（多肽）。如艾滋病病毒（HIV）外壳上的 L-型酸性蛋白酶的对映体已被成功合成（图 1）[1]，它是由 99 个 D-型氨基酸残基组成的 D-型酸性蛋白酶，而且它同样可以形成二聚体，并且具有酶活性，但反应底物必须是 D-型氨基酸构成的肽类，而且呈现专一性。这表明了 D-型氨基酸同样可以形成有活性的蛋白质。的确在极少数蛋白质（如眼球 α 晶体蛋白）中已检测到 D-型天冬氨酸存在，其比例随着年龄的增长而变大[2]。而目前自然界中发现的蛋白质多为 L-型氨基酸残基组成。难道选用 L-型氨基酸形成蛋白质是一种偶然的自然选择？

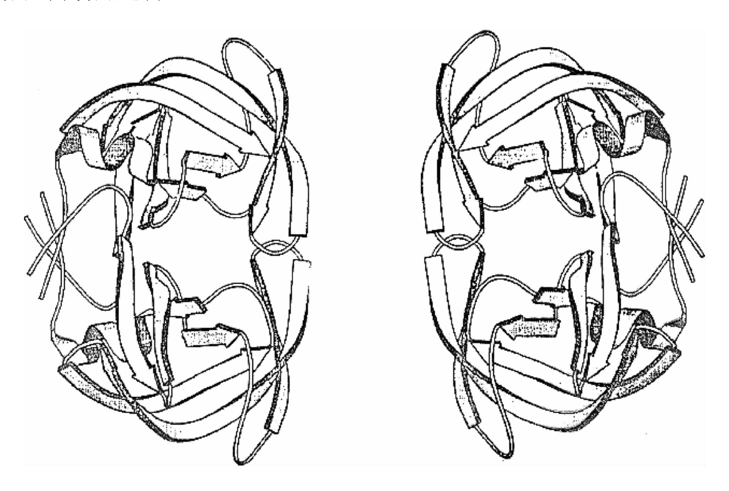


图 1　L-型氨基酸构成的 HIV 蛋白酶（左）和 D-型氨基酸形成的 HIV 蛋白酶（右）互为对映体

与蛋白质相反，在自然界中多糖主要由 D-型单糖组成，也存在少量 L-型单糖。如 L-岩藻糖多存在于许多糖蛋白和糖脂中糖链的非还原末端。在卡拉胶和琼脂等

海洋多糖中还存在着 L-型半乳糖。在自然界中，除岩藻糖、阿拉伯糖和鼠李糖的 L-型远多于 D-型外，其他几乎为 D-型糖。此种现象在生物界中如何产生目前不清楚。也有学者认为，生物分子在 40 亿年前就产生了，当时就出现了 L-型氨基酸和 D-型单糖。如果当时出现这种现象是一种偶然的选择，经过长期的演化可能会出现变化，而不会形成至今仍是 L-型氨基酸和 D-型单糖构成的生物界。而这样的手性选择能稳定维持至今，其中一定有其必然性。而其中内在的原因目前仍是一个迷。

自然界选定 L-型氨基酸为蛋白质的基本结构单元，D-型单糖为机体中主要的单糖，这对生物体的发生和演化产生了重要的影响。最明显的例子是，合成蛋白质的体系必须以 L-型氨基酸为原料，而不能使用 D-型氨基酸。对多数氨酰基-tRNA 合成酶而言，它们只能识别 L-型氨基酸。但是也有个别例外，如针对酪氨酸的氨酰基-tRNA 合成酶也可以和 D-酪氨酸反应，得到 D-Tyr-$tRNA^{Tyr}$[3]。既然有这样的情况发生，机体也应具有应对措施，即有特异的酰化酶，能分解 D-Tyr-$tRNA^{Tyr}$，致使 D-Tyr 无法掺入到蛋白质的新生肽链中[4]。与此类似的是，所有的蛋白酶也一定是以 L-型氨基酸为特异的底物。总之，机体中所有的运作机器及组织器官均是以 L-型氨基酸和 D-型单糖作为靶标而构造和组建。反之，D-型氨基酸或 L-型单糖对机体是有毒性的。为此，机体也产生了针对 D-型氨基酸的降解体系。例如，机体除了代谢 L-型氨基酸的氧化酶外，还有负责 D-型氨基酸的氧化酶。

L-型氨基酸和 D-型单糖之间的对应关系[5]与蛋白质、糖和核酸的发生和演化有关。因为现存的蛋白质的合成体系是适合于 L-型氨基酸的蛋白质的生物合成。目前研究的氨酰基 t-RNA 合成酶可能对作为底物的氨基酸具有光学活性的专一性，仅接受 L-型氨基酸。假如由 L-核糖代替现存的 D-核糖构成的核酸，对应的蛋白质是否应由 D-型氨基酸作为蛋白质的基本结构单位呢？最近已得到部分实验证实。利用 RNA 的微型螺旋、氨酰基磷酸寡核苷酸和桥联寡核苷酸，可以将丙氨酸连接到 RNA 的微型螺旋上。如果使用的是 D-核糖构成的微型 RNA 螺旋，它接受 L-丙氨酸和 D-丙氨酸的比例为 4∶1；一旦微型 RNA 螺旋是由 L-型核糖构成，则它接受 L-丙氨酸和 D-丙氨酸的比例改变为 1∶3.6[6]。尽管这个实验给出的还不是全或无的结果，但是已经可以说明 D-核糖组成的聚合物对 L-型氨基酸的偏爱。如果使用更为完整的 t-RNA，可能会显示出更严格的选择性，也许会给出全或无的结果，即 D-核糖形成的 RNA 只接受 L-型氨基酸，完全排斥 D-型氨基酸。随后产生的问题是，在生命演化过程中究竟是 L-型氨基酸选择了 D-型核糖，还是 D-型核糖选择了 L-型氨基酸？已有的实验结果表明，氨基酸可以催化乙醇醛缩合成为 4 个碳原子构成的丁糖，而氨基酸的手性决定了丁糖的构型。这一结果似乎提示了可能是氨基酸的手性决定了有关核糖的构型。自然界既然选择了 L-型氨基酸和 D-型单糖，它们对生物的发生和演化又产生了哪些影响？两者之间是否存在着必然的对应

关系？

因为手性分子在一定条件下会发生消旋现象，因此在自然界中，只要有一种构型的手性分子，就不可避免地出现另一种手性分子。特别是在生物大分子非特异的降解过程中，一定会同时形成两种不同手性产物的混合物。只是因为不同的手性化合物的两种构型的稳定程度不同，两种手性出现的几率和比例会有所差异。特别是在食品化学中，消旋现象更是普遍，特别是产生的D-型氨基酸的毒性问题[7]。在人体中，尤其是脑中，发现最多的D-型氨基酸是D-天冬氨酸[2]。它们不是L-天冬氨酸消旋产生的，而是L-天冬酰胺脱酰胺的产物，而且是老年化的一个指标。在人体中，还发现D-丝氨酸也可以作为神经递质[8]。D-苯丙氨酸在一定程度上可以替代L-苯丙氨酸[7]。可是多数D-型氨基酸对机体是有毒的。例如D-酪氨酸，结构看似与D-苯丙氨酸类似，但不能被机体利用并显现毒性。长期以来，在利用化学合成手段研究肽类的结构和功能关系时，经常利用D-型氨基酸代替L-型氨基酸。其基础就是D-型氨基酸的产物会对目前L-型氨基酸组成的机体有抑制作用，乃至毒性。

约有近一半的参与蛋白质合成的氨基酸也以D-型构型出现在低等生物体中，尤其是在微生物中。其中一些是存在于细菌的细胞壁中，为构建肽聚糖所必需。另有一些则是被用于抗菌素和其他次生代谢产物的合成。因为这些小分子质量的肽类生物合成可以没有模板，只要有特异的酶催化即可。尽管在很多微生物中也存在着不少奇特的L-型单糖组成的糖苷类，然而L-型单糖在生物体中存在的意义，却很少有人问津。

在自然界中，核酸选用D-核糖和D-脱氧核糖，而非L-核糖和L-脱氧核糖，而蛋白质选用L-型氨基酸，而非D-型氨基酸，这是现代生物化学和分子生物学中的最基本常识。然而，其中的原由仍是发人深思的。如果从中能窥探到某些必然性和相应的规律，定会为生命的起源和生物的演化等基础问题提供新的思路。在生命起源和生物大分子产生过程中，除了有核酸和蛋白质孰先孰后的问题外，还有很多值得关注的难题，其中包括：自然界中蛋白质/肽类、糖类和脂类等生物大分子，从表观上看，都是单体失水后的缩合产物，为何核酸却是核苷酸的去磷酸的缩合产物，而非核苷的失水产物？生物体中还存在的D-型氨基酸和L-型单糖有没有什么特定的生物学意义？

参 考 文 献

［1］ Muir TW，Kent SBH. The Chemical Synthesis of Proteins. Curr Opin Biotech，1993，4 (4):420-427

［2］ Fujii N. D-Amino Acid in Elderly Tissues. Biol Pharm Bull，2005，28 (9)：1585-1589

［3］ Soutourina O，et al. Formation of D-Tyrosyl-$tRNA^{Tyr}$ Accounts for the Toxicity of D-Tyro-

sin toward *Escherichia Coli*. J Biol Chem，2004，279（42）：42560-42565

［4］ Yang HB，et al. D-Amino Acids and D-Tyr-tRNA^{Tyr} Deacylase：Stereospecificity of the Translation Machine Revisited. FEBS Letters，2003，552（2/3）：95-98

［5］ Tamura K. Origin of Amino Acid Homochirality：Relationship with the RNA World and Origin of tRNA Aminoacylation. Biosystem，2008，92（1）：91-98

［6］ Tamura K，Schimmel P. Chiral-selective Aminoacylation of RNA Minhelix. Science，2004，305（5688）：1253

［7］ Friedman M. Chemistry，Nutrition，and Microbiology of D-Amino Acid. J Agric Food Chem，1999，47（9）：3457-3479

［8］ Scolari MJ，Acosta GB. D-serine：a New Word in the Glutamatergic Neuro-glial Language. Amino Acids，2007，33（4）：563-574

撰稿人：[1] 王克夷　[2] 杜昱光

1 中国科学院上海生命科学院生物化学和细胞生物学研究所

2 中国科学院大连化学物理研究所

审稿人：金　城　查锡良

小小的唾液酸中蕴藏着多大的奥秘?

How Many Mysteries in Small Sialic Acid?

说起唾液酸也许知道的人并不多，但是说起流感、甲型 H1N1 流感或禽流感，则无人不晓。殊不知，唾液酸和流感的关系异乎寻常。甲型 H1N1 流感中的 H 和 N 都与唾液酸有关。H 和 N 分别是英文中血凝素（hemagglutintin）和神经氨酸酶（neuraminidase）两个词的首字母。H 和 N 它们作用的对象都是唾液酸。唾液酸不仅是流感病毒的靶标，也是其他许多病毒和病原体的靶标（图 1）[1]。

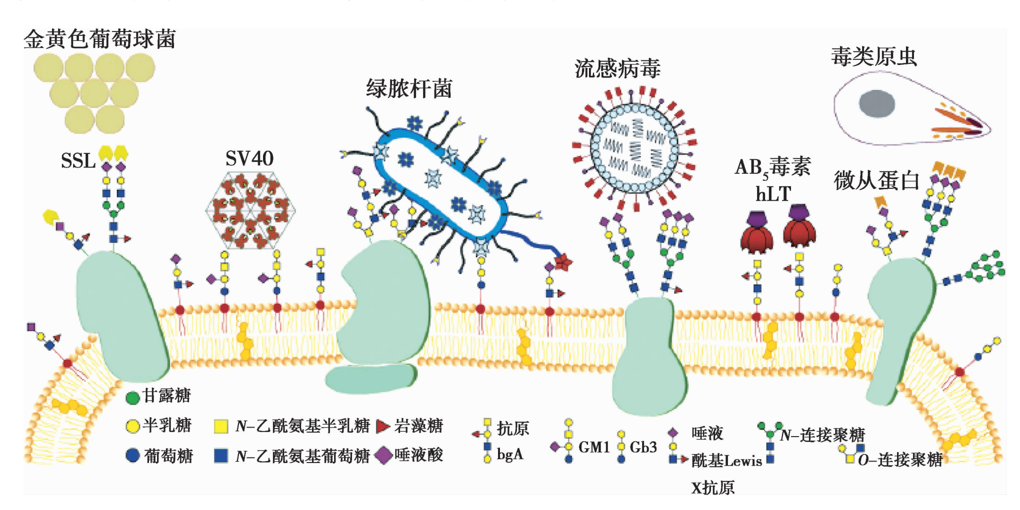


图 1　一些病原体和细胞表面糖复合物识别和黏着模式图

唾液酸是什么?

唾液酸是一类单糖的总称。因为它们的代表——*N*-乙酰神经氨酸——是从唾液中的糖蛋白发现的，由此得名。它不像葡萄糖等已糖、核糖等戊糖那么常见，但是在糖生物学中却占有重要地位，在很多糖生物学的专业书籍中，唾液酸往往有单独的一章，以至于在糖生物学中竟然有唾液酸生物学（siaolobioogy）这样一个分支。

唾液酸是一类由九个碳原子组成的单糖。其中最常见的成员是 *N*-乙酰神经氨酸（Neu5Ac），其结构见图 2a。其没有修饰的神经氨酸是所有唾液酸的母体结构，其化学名为 2-酮基-3，5-二脱氧-5-氨基-D-甘油型-D-半乳糖型-壬糖酸。神经氨酸并不是简单的九碳糖，而是经多种修饰的九碳糖：C1 有一个羧基；C2 是酮基；C3

经脱氧；C5 上的羟基被氨基取代。在自然界中，最常见的是六个碳原子构成的已糖和五个碳原子组成的戊糖，因为已糖和戊糖倾向于形成稳定的六元环和比较稳定的五元环。虽说唾液酸是九碳糖，但是它也形成六元环，只是比其他的已糖多了一条由三个碳原子组成的侧链“尾巴”。然而，在这条尾巴上的三个碳原子均可以被许多基团修饰，而且修饰的方式是随机和多元的，再者 C5 的氨基也可以被多种基团修饰（图 2c），致使目前发现的唾液酸家族的成员超过 50 种，这是其他任何单糖都无法比拟的。图 2c 中各个取代基（R1～R9）可能的取代方式列于表 1 中。在最近，更是发现了一种 C5 上的氨基被羟基取代的九碳糖，2-酮基-3-脱氧-壬糖酸（Kdn），也被认为是唾液酸家族的新成员，见图 2b。

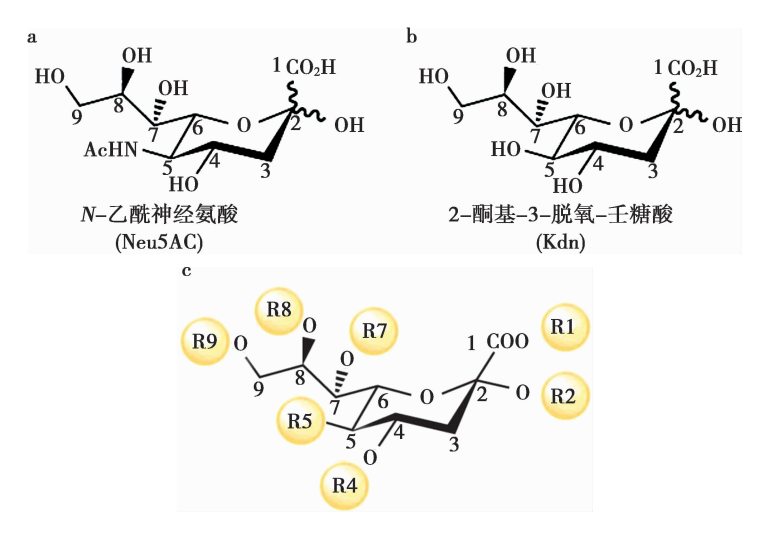


图 2　唾液酸的结构特征[2]

表 1　唾液酸中可以被修饰的位点和方式[2]

连接基团	H	OH	NH_2	CH_3CO	SO_4	PO_4	脱水/脱氧	糖基化
R1	√	同分子，其他糖链	同分子的游离氨基					
R2	√						2，3或 2，7	Gal，GalNAc，GlcNAc，Sia
R4	√			√			4，8	Fuc，Gal
R5		√（Kdn）	√（Neu）*					
R7	√		其他分子	√			2，7	
R8				√	√		4，8	Sia，Glc
R9	√			√	√	√	自身脱氧	Sia

* 如果分子中的 C5 上为氨基，即整个分子是神经氨酸，则此氨基可以进一步被修饰，例如乙酰化（CH_3CO—）、羟乙酰化（$HOCH_2CO$—）。

在结构上唾液酸是一种经多种修饰的九碳糖，而且它们还有两个重要的特性。一是在自然界中，唾液酸的分布并不是非常普遍的，主要存在于高等哺乳动物中，迄今似乎在植物界中还没有发现[3]，在微生物中却又出现，特别是一些病原体微生物。更有趣的是在许多病毒中尽管没有唾液酸，但是它们却有作用于唾液酸的凝集素和水解酶。二是在糖链中的部位也非常独特。除非是一组唾液酸形成寡聚物或多聚物，否则它总是在糖蛋白和糖脂中糖链的非还原末端（图 1）。

为何病原体喜欢选择唾液酸作为其攻击的靶点？

从理论上说，病原体喜欢选择唾液酸作为其攻击的靶点是非常自然和合理的，因为在高等动物的细胞表面都有唾液酸，而且唾液酸又位于糖链的最外侧的非还原末端，因此最容易发现和受到攻击。为此，在许多病原体的表面都有作用于唾液酸的凝集素和水解酶。图 1 显示了病原体与细胞表面糖复合物识别和黏附的模式。但是，不同物种的细胞表面的唾液酸的存在方式有所不同，致使不同的病原体表面的攻击“武器”均有其特异的宿主专一性（表 2）。近年来，从禽流感到最近的人甲型 H1N1 等流感肆虐，然而这些流感病毒基本是各找各的宿主，原因就是各种流感病毒表面的血凝素 H 各不相同，目前已知的这类 H，至少有对人类的 H1，对禽类的 H5 和 H7；在北美鸡的流感病毒中还分离得到了 H2。

表 2　以唾液酸为靶标的病原体

病原体		与宿主作用的蛋白质		作用的位点
		凝集素	神经氨酸酶	
疟原虫		裂殖子红细胞结合抗原		Sia α 2-3Gal β 1-3GalNAc Sia α 2-6
细菌	大肠杆菌 K99	S-黏着蛋白		肠道 Sia α 2-3Gal β 1-4Glc
	大肠杆菌 CFA/1			肠道 Sia α 2-8-
	大肠杆菌 S			神经 Sia α 2-3Gal β 1-3GalNAc
	幽门螺旋菌	SabA，SabB		胃 Sia α 2-3GalGal β 1-4GlcNAc
	霍乱弧菌	霍乱毒素 B 亚基		Sia α 2-3Gal
	破伤风梭菌	破伤风毒素		
	肉毒梭菌	肉毒毒素		
	百日咳菌	百日咳毒素		
	绿脓杆菌			Sia α 2-3Gal β 1 -3GlcNAc- L-Sia α 1 -3

续表

	病原体	与宿主作用的蛋白质		作用的位点
		凝集素	神经氨酸酶	
病毒	肺炎支原体	血凝素		
	人 A 型流感病毒	血凝素	√	Sia α 2-6Gal β 1-4GlcNAc-
	禽 A 型流感病毒	血凝素	√	Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc-
	B 型流感病毒	血凝素	√	
	灵长类多瘤病毒	血凝素		
	轮状病毒	血凝素		
	新城病病毒	血凝素/神经氨酸酶		
	仙台病毒	血凝素/神经氨酸酶		
	家禽瘟疫病毒	血凝素/神经氨酸酶		
	C 型流感病毒	血凝素/酯酶		9AcSia α 2-6Gal β 1-4GlcNAc
	人和牛冠状病毒	血凝素/酯酶		

在病原体选择宿主的同时，也是宿主设法清除和消灭入侵病原体的过程，因此病原体和宿主的相互作用是入侵和防御的较量，其中宿主表面的唾液酸和病原体的结合蛋白都是双刃剑。唾液酸既是宿主捕获病原体的诱饵，同时又是病原体入侵的靶标，强者得胜。然而，唾液酸及其结合蛋白组成的攻防双方的选择和组合是自然界中诸多生物体共同演化的结果，既有其必然性，同时也有偶然性。

为什么多聚唾液酸仅存在于某些细胞表面?

关于唾液酸还有另一个谜。在多数的糖链，不论是糖蛋白还是糖脂的糖链中，处于非还原端的唾液酸几乎都是一个，在极少数的糖脂链中有两个唾液酸组成的二体。多聚唾液酸链在生物体中并不多见，仅存在于某些细胞表面的某些糖蛋白中，例如在神经系统、鱼卵一些糖蛋白的糖链中[4,5]。有趣的是，唾液酸和其他糖基连接方式或是 α 2-3，或是 α 2-6，而在多聚唾液酸中唾液酸间的连接方式多数是 α 2-8（图 3a）[5]。为什么在个别组织和细胞中的糖链选用了 α 2-8 连接的多聚唾液酸链?

在神经细胞黏着分子（NCAM）的 *N*-糖链中存在着多聚唾液酸链（图 3b）[4]。在胎儿发育的后期，多聚唾液酸的量是减少的，而且神经的可塑性与多聚唾液酸有关。神经突的出芽、神经损伤修复、轴突迁移，以及昼夜节律调节等生理过程均涉及多聚唾液酸。目前认为多聚唾液酸的作用基础是其多聚阴离子的特性，它们的存在可以影响神经细胞间的随机黏附。然而，在各类细胞表面的细胞基质中存在着大量的蛋白聚糖，它们也是多聚阴离子，因此多聚唾液酸的出现

一定还有其他的理由。比较 α 2-3、α 2-6 和 α 2-8 三种不同方式连接的唾液酸，不难发现，α 2-3 连接的唾液酸活动自由度最小，α 2-6 连接的唾液酸活动自由度有所增大，α 2-8 连接的唾液酸活动自由度最大。所谓的可塑性是否与多聚唾液酸糖链的活动自由度有关？

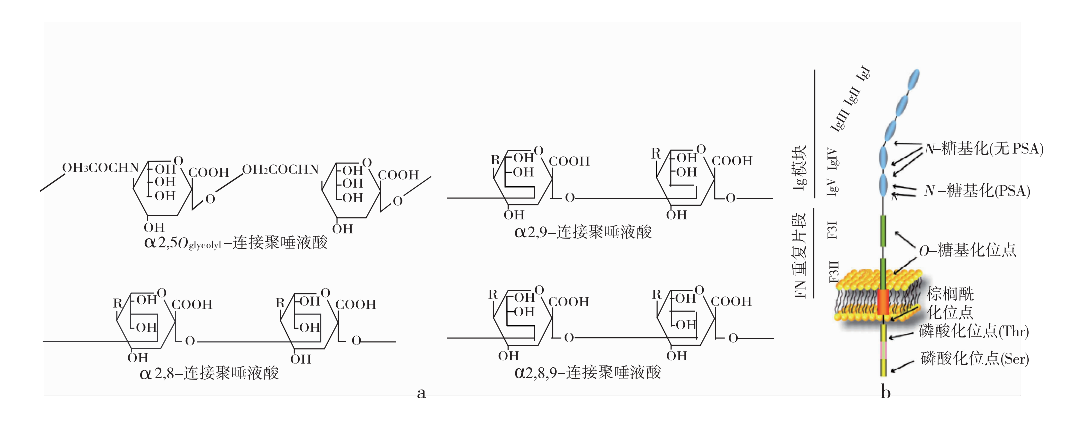


图 3　一些多聚唾液酸及相关糖蛋白的结构

a. 一些多聚唾液酸中唾液酸的连接方式；b. 神经细胞黏着分子中的多聚唾液酸的定位

对于鱼卵中多聚唾液酸的作用了解更少。有趣的是，最近在海胆卵的表面发现多种类型的多聚唾液酸，除了上述的 α 2-8 连接的外，还有 α 2-9 连接的，甚至还有 *N*-羟乙酰神经氨酸中乙酰基上羟基参与连接的多聚唾液酸（图 3a）[5]。

在奈氏脑膜炎球菌等病原体的表面也存在多聚唾液酸，这似乎可以理解。这些病原体利用机体中特有的糖链鱼目混珠，逃避机体对它们的免疫攻击。然而。多聚唾液酸却出现在人的树突状细胞表面并参与了树突状细胞和淋巴细胞的相互作用。

为什么人类等高智商的动物中羟乙酰神经氨酸明显减少？

人类为什么比其他动物更聪明？从基因组的研究看，人和黑猩猩的差别极小，仅 1%～2%。这些微小的差异中与智商有关的根源在哪里？原因也许是多方面的，而有关唾液酸的研究为解答这个难题提供了一条新的思路。

在黑猩猩和其他更为低等的哺乳动物中，正常情况下均存在 *N*-羟乙酰神经氨酸（Neu5Gc），而在正常人体中却没有这种类型的唾液酸，虽然在胎儿和某些肿瘤组织中也还有少量的 Neu5Gc。在生物演化的过程中，由于某种原因编码 CMP-Neu5Ac 羟化酶的基因发生了突变，仅是个别核苷酸的缺失，而表达产物失去了原先具有的酶活[3]。Neu5Gc 的另一个特点是在机体的其他各部位存在量较多，而在脑和中枢神经系统中却极少。长期进行唾液酸研究的美国学者 Ajit Varki 据此提出了一个假设：是否因在人脑中全然没有了 Neu5Gc，从而进一步促进了人脑

的发育[6]？

在 Neu5Gc 研究方面有两个问题是值得关注的：一是 Neu5Gc 是否确实与人脑的发育和智力有关？二是 Neu5Gc 在人体中消失的驱动力是什么？就后一个问题而言，有一种假设是诸多病原体的靶点是唾液酸，因此为了避免病原体的攻击，有关唾液酸的结构和功能方面发生了“变异”。Neu5Gc 在人体中的消失也许与此不无关系。

然而，近几年中有关这一课题的研究报道却没有明显地增多。究其原因似乎不是这疑问已经解答了，而是因为揭示此问题的本质尚有很大的困难，研究应该有新的切入点和突破口。

多变的唾液酸还能干些什么？

有关唾液酸的故事还不仅上述这些。最近的研究结果表明，多聚唾液酸在神经系统中的作用远不只是与神经细胞的塑性有关，甚至还与学习记忆有关。唾液酸不仅与病原体的感染性疾病有关，还与肿瘤等其他疾病关联[7]。唾液酸与免疫学之间存在着错综复杂的关系[8]。

人体有必需氨基酸和必需脂肪酸，但很少知晓人体是否还有必需的单糖。然而，最近有学者提出，唾液酸是人脑和智力发育必需的单糖[9]。可是又有人认为，食物中含有的人体没有的唾液酸，例如 Neu5Gc，可能对人体有害。

唾液酸家族的新成员 2-酮基-3-脱氧-壬糖酸的研究刚刚开始。基于唾液酸与很多疾病，特别是许多病毒感染的疾病有关[8]，因此很多药物的设计均是以此为基点[10]。

总之，作为生物学和糖生物学的一个分支，唾液酸生物学的前景无法估量，然而其中有待揭示的奥秘也不少。

参 考 文 献

［1］ Imberty A，Varrot A. Microbial Recognition of Human Cell Surface Glycoconjugates. Curr Opin Struct Biol，2008，18 (5)：567-576

［2］ Varki A，Schauer R. Sialic Acids，In Essentials of Glycobiology. 2nd. Edition. Varki A Cummings RD，Esko JD，et al. 2009. New York：Cold Spring Harbor Laboratory Press

［3］ Varki A. Multiple Changes in Sialic Acid Biology during Human Evolution. Glycocon-guates J，2009，26 (3)：231-245

［4］ Gascon E，Vutskits L，Kiss JZ. Polysialic Acid-Neural Cell Adhesion Molecules in Brain Plasticity：From Synapses to Intergration of New Neurons. Brain Res Rev，2007，56 (1)：101-108

［5］ Miyata S，Sato C，Kitajima K. Glycobiology of Polysialic Acid on Sea Urchin Gametes.

Trends Glycosci Glycotech，2009，19（106）：85-98
[6] Alper J. Sugar Separates Humans From Apes. Science，2001，291（5512）：2340
[7] Varki A. Sialic Acids in Human Health and Disease. Trends Mol Med，14（8）：351-360
[8] Van Kooyk Y，Rabinovich GA. Protein-Glycan Interactions in the Control of Innate and Adaptive Immune Responses. Nat Immunol，2008，9（6）：593-601
[9] Wang B. Sialic Acids is an Essential Nutrient for Brain Development and Cognition. Ann Rev Nutrition，2009，29：177-222
[10] Carlescu I，Scutaru D，Popa M，et al. Synthetic Sialic Acid-Containging Polyvalent Antiviral Inhibitors. Med Chem Res，2009，18（6）：477-494

撰稿人： 王克夷
中国科学院上海生命科学院生物化学和细胞生物学研究所
审稿人： 金 城 查锡良

为何细胞中蛋白质的 *O*-糖基化及 *N*-糖基化过程中存在着明显的差异?

Why There Exist Obvious Differences between *O*-glycosylation and *N*-glycosylation of Cellular Protein?

自然界的糖类，除了以单糖、寡聚糖、多糖及其与小分子连接形成化合物如糖苷等形式存在外，糖类还可以与生物大分子如蛋白质、核酸及脂类分子形成糖复合物（或称糖缀化合物）。常见的糖复合物有糖蛋白、糖脂、蛋白聚糖和糖基磷脂酰肌醇锚定的糖蛋白。其中糖蛋白和蛋白聚糖上的糖基化主要分为多肽链中 Asn 侧链上的 *N*-糖基化和 Ser/Thr 羟基上的 *O*-糖基化。

研究发现生物体中许多蛋白质（如酶、免疫球蛋白、载体蛋白、激素、毒素、凝集素和结构蛋白等）是糖蛋白，尤其是细胞膜蛋白几乎都是以糖基化蛋白或蛋白聚糖形式存在（图 1）[1]。它们与各种生命活动（如细胞识别黏着、运动迁移、免疫应答、物质运输、信息传导、细胞分裂、细胞分化、衰老及病变、癌变等）都有密切的关系[2]。不同的糖蛋白结构造成了蛋白质功能的差别。*N*-糖链及 *O*-糖链精准结构的生物合成是维系机体正常生理过程的重要保证[3]。为何糖链（包括 *N*-糖链及 *O*-糖链）的结构可以决定许多糖蛋白的功能，这也一直是糖生物学家的待解之迷。

更另人费解的是，在所有的生物体中基因密码是相同的，组成蛋白质的 20 种常见氨基酸也是所有物种共有的。但是，糖蛋白中的糖链结构却可以因为物种不同而不同，出现了糖链结构的物种间差异。动物器官移植到人体时出现排异的诸多原因之一就是糖链结构的微小差别。即使是同一个个体，在不同组织中分离得到的糖链也会出现差异，即糖链结构的组织特异性。图 2 是同种动物的肾脏和肝脏中得到的糖链的结构分析[4]。肾脏中糖链的结构特征是外周结构中没有唾液酸，但是有 L-岩藻糖，在核心糖链中还有平分型的 *N*-乙酰氨基葡萄糖。而肝脏中的糖链结构和肾脏的不同，有唾液酸而无外周的岩藻糖，没有平分型的 *N*-乙酰氨基葡萄糖。从中还可以得到另一个重要信息，即使在同一组织中的 *N*-糖链的结构也不是单一的，有多种不同的结构，有的彼此差异很小，仅一个糖基，甚至相同的肽链上同一氨基酸残基上连接的糖链结构也有不同。

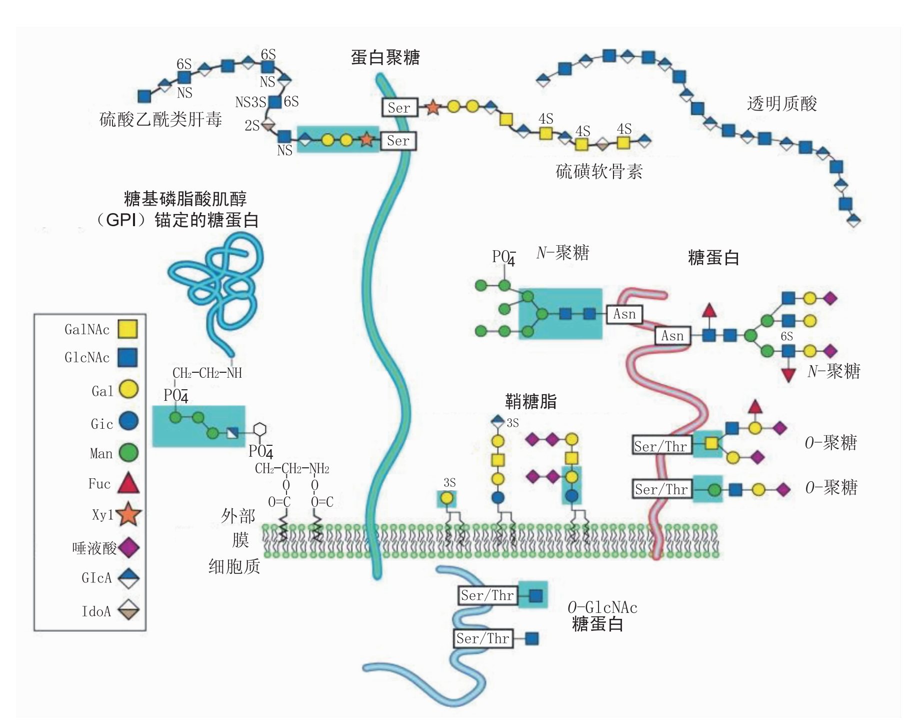


图 1　人体中常见的几类复合糖类[1]

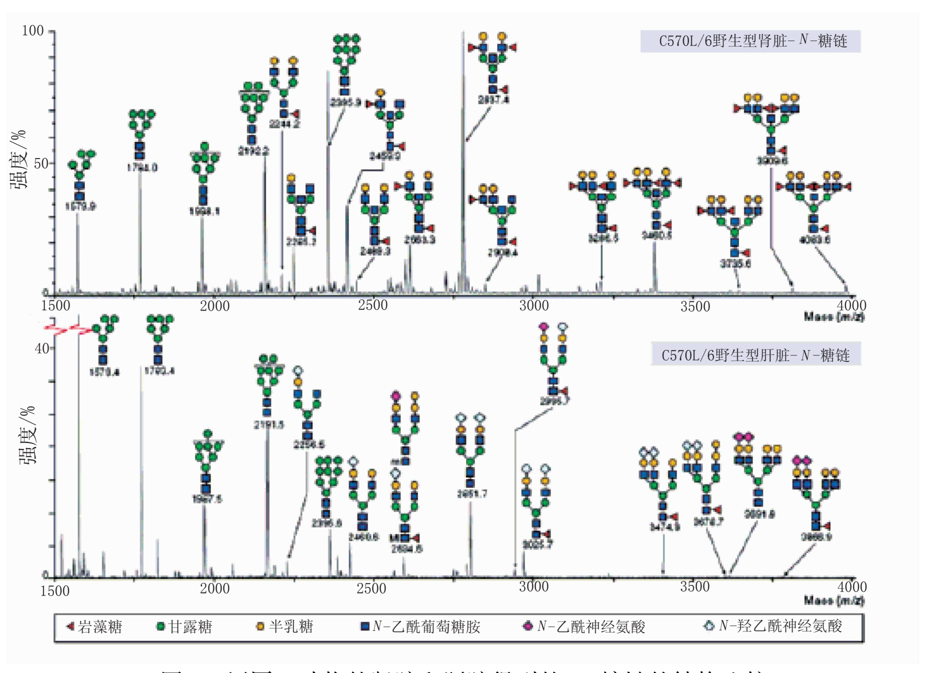


图 2　用同一动物的肾脏和肝脏得到的 N-糖链的结构比较

糖链的生物合成截然不同于核酸和蛋白质，它没有统一固定的模板，是在糖基转移酶的作用下，将糖基由糖基供体（糖核苷酸）“搬运”到糖基受体上。*N*-糖链的合成与一般的糖链合成不同，不是简单依次糖基连续转移的结果，而是先合成一个寡糖的前体——G 寡糖，由 14 个糖残基组成（图 3）[5]。由图 3 可知，G 寡糖的生物合成是在细胞质和内质网之间穿梭进行的。并由一种 G 寡糖基转移酶将 G 寡糖以整体的方式转移到已合成好的蛋白质中某些天冬酰胺残基的侧链上，此过程发生在内质网中。接着 G 寡糖结合蛋白转移到高尔基体内，经其中糖苷酶和糖基转移酶加工作用直至成熟，*N*-糖链的生物合成和成熟过程非常复杂，其中最简单是高甘露糖型，其次是杂合型，复杂型则是变化最多的[6]。

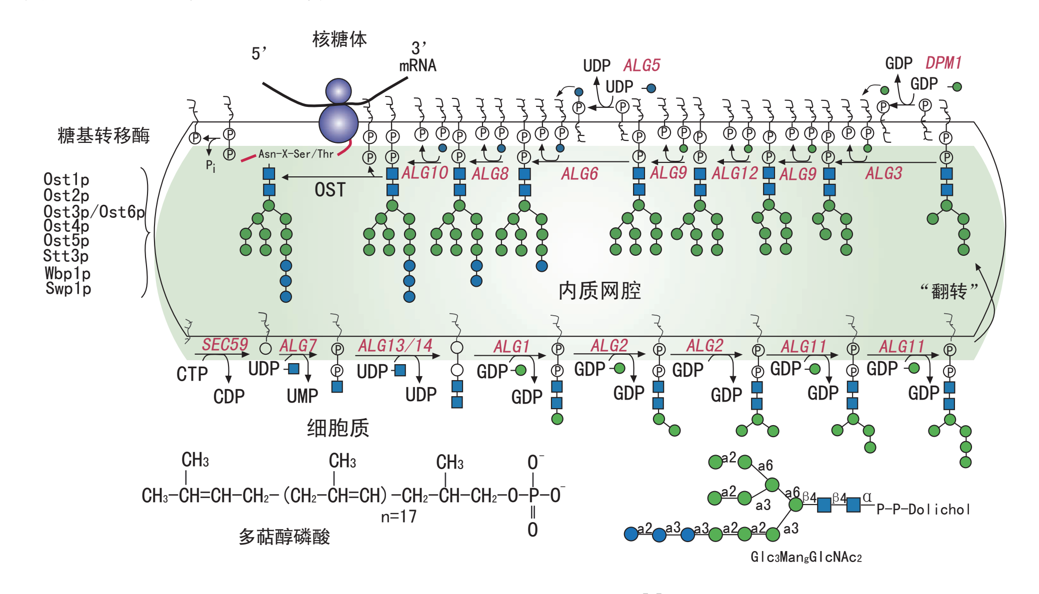


图 3　G 寡糖的生物合成[5]

而 *O*-糖链的体内生物合成过程与 *N*-糖链合成过程存在明显差异[7]。首先，最常见的 *O*-糖链合成都是从第一个糖基——乙酰氨基半乳糖（GalNAc）与一个丝氨酸或苏氨酸连接开始，在不同糖基转移酶作用下，接上不同的单糖，致使糖链逐步延伸。此外还存在其他类型的 *O*-糖基化，乃至单糖的 *O*-糖基化[8]（如 O-Glc-NAc）。它们均不存在预先合成的 G 寡糖核心或整体转移。其次，*O*-糖基化可由许多酶催化与丝氨酸或苏氨酸的结合。而 *N*-糖基化只能由一种寡糖基转移酶催化。再次，*O*-糖基化是蛋白质翻译后在高尔基体内发生的。而 *N*-糖基化的 G 寡糖转移发生在内质网中，*N*-糖链的后成熟加工过程则发生在高尔基体内。

为何两种类型的蛋白质糖基化修饰过程存在如此大的区别？糖链合成所需要的糖基转移酶的表达是受哪些因素调控的？糖基转移过程是如何引发的？又是如何终止的？在蛋白质新生肽链合成过程中有各种引发因子、延伸因子和终止因子，那么

在糖链生物合成中是否也有类似的因子？

参 考 文 献

[1] Fuster M，Esko JD. The Sweet and Sour of Cancer：Glycans as Novel Therapeutic Targets. Nat Rev Can，2005，5（7）：526-542

[2] Lau KS，et al. Complex *N*-Glycan Number and Degree of Branching Cooperate to Regulate Cell Proliferation and Differentiation. Cell，2007，129：123-134

[3] Kobata A. Structures and Functions of the Sugar Chains of Glycoproteins. Eur J Biochem，1992，209：483-501

[4] Lee R，Lauc G，Lee YC. Glycoproteomics：Protein Modifications for Versatile Functions. EMBO Reports，2005，6（11）：1018-1022

[5] Varki A，et al. 2008. Essentials of Glycobiology. New York：Cold Spring Harbor Laboratory Press，375

[6] Schenk B，et al. The ins（ide）and outs（ide）of Dolichyl Phosphate Biosynthesis and Recycling in the Endoplasmic Reticulum. Glycobiology，2001，11：61-70

[7] Schachter H. The joys of HexNAc. The Synthesis and Function of *N*-and *O*-Glycan Branches. Glycoconj J，2000，17：465-483

[8] Wells L，Hart GW. *O*-GlcNAc Turns Twenty：Functional Iimplications for Post-Ttranslational Modification of Nuclear and Cytosolic Proteins with a Sugar. FEBS Lett，2003，546：154-158

撰稿人：[1] 王克夷 [2] 杜昱光

1 中国科学院上海生命科学院生物化学和细胞生物学研究所

2 中国科学院大连化学物理研究所

审稿人： 金 城 查锡良

糖蛋白中的糖链代谢及结构异常与疾病形成

Disorder of Glycan Chains Metabolism and Structure in Glycoprotein and Disease Development

研究发现脊椎动物的胚胎发育和细胞激活过程中均伴有细胞糖链结构的改变，而细胞糖链结构的改变也是一些疾病（如糖尿病、细胞癌变及肿瘤发生等）的普遍特征。因此一些糖链的改变所产生的特殊结构可作为肿瘤诊断的标志物（如岩藻糖基化的甲胎蛋白已作为肝癌诊断的标记物）。在癌变细胞中可能发生着各种形式的糖基化变化，如肿瘤细胞糖蛋白 *N*-糖链中的 β1-6 分支糖链的增加，这是乙酰氨基葡萄糖转移酶 V（GlcNAcT-V）及转移酶Ⅲ（GlcNAcT-Ⅲ）过度表达的结果[1]。而肿瘤细胞表面的唾液酸含量、连接方式及其修饰方式的改变都与肿瘤的发生和转移相关。研究表明肿瘤周围的基质中蛋白聚糖的含量发生明显变化，细胞癌变时硫酸类肝素的硫酸化水平降低、聚透明质酸表达增加。CD44 是蛋白聚糖的主要受体，其自身糖基化和糖胺聚糖链的添加影响着它与聚透明质酸的活性结合。研究发现 CD44 表达及糖链的改变与多种肿瘤形成相关，有些直接与肿瘤转移相关[2]。越来越多的事实证明糖类和疾病的关系非常密切。然而，不同细胞糖链的改变与肿瘤形成及转移的关系目前仍是一个未解之谜。

糖尿病是一种与胰岛素相关的糖代谢失调性疾病，常伴随血管和神经系统的并发症。体液中的高浓度葡萄糖可加速葡萄糖与蛋白质上赖氨酸残基的随机反应，形成非酶促反应的葡萄糖化蛋白（即糖化终产物）。一般这些糖化终产物会对细胞功能产生损伤，有些被受体识别直接参与粥样硬化形成过程[3]。近年来研究发现体内 *O*-GlcNAc 含量升高，引起细胞核及胞液内的 *O*-GlcNAc 糖蛋白增加，磷酸化水平降低，导致糖尿病的形成。糖链代谢异常也会引起一些其他疾病，特别是糖脂类的降解代谢，因为神经系统是富含糖脂的，没有彻底降解的糖脂贮积在神经系统中，会影响智力的发育，甚至引起夭折。此外，由于一些单糖同时存在于多种复合糖类的糖链中，因而切除这些糖基的糖苷水解酶的缺损会造成多种糖链的贮积。图 1 显示的是糖蛋白中的 *N*-糖链降解所需要的诸多糖苷水解酶，以及这些酶的缺损导致的疾病[4]。经研究发现，导致糖链贮积综合征的原因是有关糖苷水解酶的异常，诸如基因的缺损、酶的折叠异常等。至于这些贮积的糖类/糖链是如何引起疾病的，如怎样影响到智力发育的却知晓得不多。

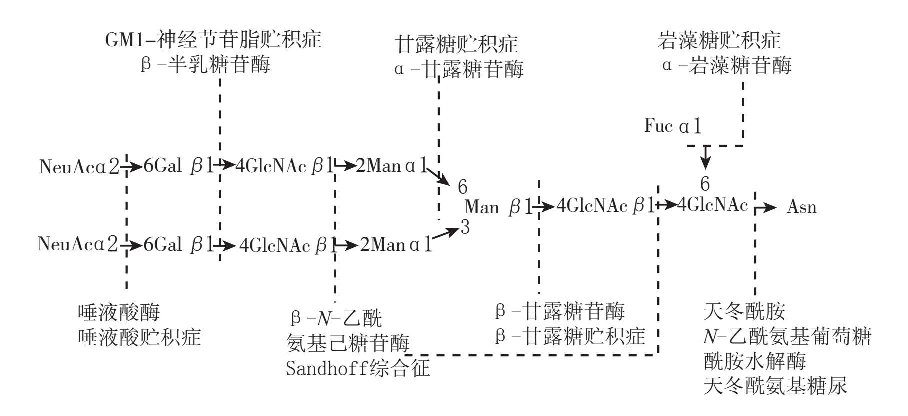


图 1 *N*-糖链降解代谢异常和引起的疾病[4]

除了糖链的降解异常可以导致疾病，糖链的生物合成异常也会导致疾病。目前 *N*-糖链合成异常正在引起人们的关注。其原因也是先天性的遗传缺陷，被称为先天性糖基化失常（congenital disorder of glycosylation，CDG）[5,6]，在 1999 年前曾被称为糖缺陷糖蛋白综合征（carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome，CDGS）。从 1978 年发现第一例 *N*-糖链合成异常的 CDG 以来仅 30 多年，但是发现有关 CDG 的亚型却近 30 种。其总体的情况可以用图 2 说明[7]。*N*-糖链非还原端的唾液酸缺失对机体没有明显影响，但唾液酸能作为一种表示一些糖蛋白和细胞“年龄”的信号，即 *N*-糖链非还原端的唾液酸存在是“能干活”的壮年标志，而无唾液酸的则为“老年”标志，应被机体代谢更新。而 *N*-糖链非还原端的半乳糖缺失则会对机体产生影响，例如类风湿就是丙种球蛋白（IgG）中 *N*-糖链非还原端无半乳糖的 IgG_0 糖形比例增高的结果，导致了自身免疫。半乳糖基的缺失往往是半致死的；而 *N*-乙酰氨基葡萄糖以及内侧的甘露糖的短缺则是关于性命的。

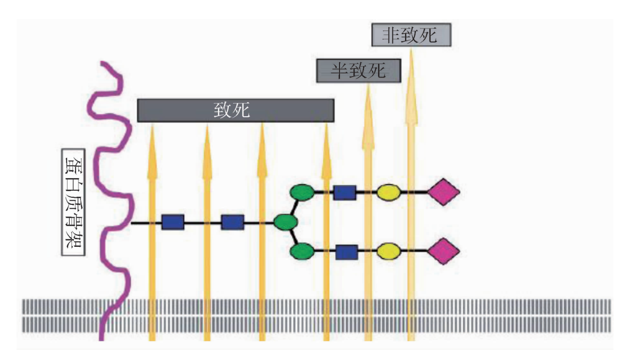


图 2 糖蛋白中 *N*-糖基化缺陷的后果[7]

在细胞中 N-糖链的合成分几步进行：先合成一个由 14 个糖基组成的 G 寡糖，然后是 G 寡糖作为一个整体转移到肽链上，最后是 G 寡糖加工成为不同类型成熟的 N-糖链。目前的 CDG 大致分为两大类，凡是因 G 寡糖合成异常则被称为Ⅰ型，而在 N-糖链形成后，在加工和成熟时的异常均归属于Ⅱ型[6]。Ⅰ型 CDG 又至少可以分为Ⅰa～Ⅰm 各亚型。这些亚型有的是甘露糖-6-磷酸磷酸变位酶的缺损，致使甘露糖-1-P 的缺少，进而使得活化甘露糖（GDP-Man）的短缺，结果是 G 寡糖无法延伸，其余多数是糖基转移酶的缺损所致。由于糖基转移酶具有高度的特异性，因此一个酶的缺损就产生一种亚型。G 寡糖中有 9 个甘露糖基，却可以因 6 种甘露糖基转移酶的缺损，产生 6 种亚型。其他 N-乙酰氨基葡萄糖基转移酶、葡萄糖基转移酶和 G 寡糖转移酶的异常也对应了不同的亚型。Ⅱ型 CDG 的亚型虽然没有Ⅰ型那么多，但也有Ⅱa-Ⅱf 六种。其中多数是糖基转移酶的差错所致，也有个别是葡萄糖苷酶的差错。

CDG 病是一种综合征，多数涉及的是神经系统，特别是智力发育，此外还有肝脏和肌肉等。不同亚型的症候也各不相同，如Ⅰa 型 CDG 的临床症状是脑部（包括大脑、小脑和脑干）发育不全，动作和语音发育迟缓，并有多发神经病变，运动失常、肌肉张力低下、骨骼肌畸形，还有肝脏功能障碍和凝血功能失常等。

和多数疾病一样，CDG 容易诊断却不易治疗。由于 CDG 的根源是一些酶的基因缺损，利用分子生物学技术很容易对各种 CDG 的亚型进行鉴别诊断。原则上可以补充缺失的酶，用再赋予（replacement）疗法治疗各种类型的 CDG。可以给予有酶活性的蛋白质重组产物，也可以采用基因疗法。对Ⅰa 型的 CDG 特例，在细胞水平进行了甘露糖的再赋予疗法，即在细胞培养时加入甘露糖，以提高 GDP-Man 的量，结果是令人欣喜的，即放射性同位素标记的甘露糖明显地参与到了糖蛋白的合成中，但是整体实验却使人失望，无明显疗效。总之，目前尚没有可行的治疗 CDG 的办法。最近又发现 GDP-Fuc 转运缺陷的病例，这些病人缺少中性粒细胞 SLex，令人兴奋的是口服岩藻糖（Fuc）的治疗可改善病人的反复感染[8,9]。然而为什么在机体中一旦有关的糖链结构发生了改变就会导致一些疾病的产生？而且为何多数是综合征？

参 考 文 献

［1］ Kim YJ，Varki A. Perspectives on the Significance of Altered Glycosylation of Glycoproteins in Cancer. Glycoconj J，1997，14：569-576

［2］ Lesley J，et al. CD44 in Inflammation and Metastasis. Glycoconj J，1997，14：611-622

［3］ Vlassara H，Bucala R. Recent Progress in Advanced Glycation and Diabetic Vascular Disease：Role of Advanced Glycation End Product Receptors. Diabetes（suppl3），1996，45：65-66

[4] 王克夷. 糖蛋白中糖部分的代谢. 上海：上海医科大学出版社，1997，54-83
[5] Jaeken J，Matthijs G. Congenital Disorders of Glycosylation：A Rapidly Expanding Disease Family. Ann Rev Genomics Hum Genet，2007，8：261-278
[6] Freeze HH，Schachter H. Genetic Disorders of Glycosylation. Essentials of Glycobiology. 2nd. Edition. Varki A Cummings RD，Esko JD，et al. New York：Cold Spring Harbor Laboratory Press，2009，Chapter 42
[7] Alavi A，Axford JS. Sweet and Sour：the Impact of Sugars on Disease Rheunatol，2008，47 (6)：760-770
[8] Aford J，et al. Glycobiology and Medicine. glycobiology，2001，11：5-7
[9] Alper J. Saving Lives with Sugar. Science，2001，291：23-39

撰稿人：[1] 王克夷 [2] 杜昱光
1 中国科学院上海生命科学院生物化学和细胞生物学研究所
2 中国科学院大连化学物理研究所
审稿人： 金 城 查锡良

吸引人的微藻“油井”

The Attractive Microalgae Oil Wells

在自然界中，藻类因具有光合作用效率高、环境适应能力强、生长周期短、生物质产量高等特点，已在食品、医疗保健、化工原料、环保、能源等领域受到广泛重视[1]。与此同时，研究还发现有些藻类在生长代谢过程中体内能积累大量油脂，且油脂含量可高达 70%～80%，因此藻类作为油脂的高效生产者而引起了广泛关注[2,3]。

微藻是一类系统发生各异、个体较小、通常为单细胞或群体的能进行光合作用的水生植物，微藻每年固定的 CO_2 大约占全球净光合量的 40%，在能量转化和碳元素循环中起到举足轻重的作用。微藻与陆生高等植物有着相同的光合作用机理，因其有简单的细胞结构，通常能够更有效地转化太阳能并且繁殖速度较快，单位面积产量是陆生高等植物的若干倍。因此许多含油微藻与高等陆生油料作物相比，单位面积内它们能够产生出多达 30 倍量的油脂。同时，许多微藻能够利用高浓度 CO_2，如发电厂的烟气，并能在盐水或海水以及农业、动物和人类的生活废水中繁殖生长。通过大规模开发微藻生物柴油，不仅可解决生物柴油的原料来源问题，同时还可能产生显著的环境效益。

目前，世界各国对利用微藻来解决环境和能源方面所面临的问题越来越关注。美国、日本等国家的科学家做了大量的科学研究和开发工作并成立了相应的国际联合机构。美国能源部从 1980 年到 1996 年，通过国家可再生能源实验室，投资了 5000 万美元启动了利用微藻开发生物燃料的项目——“Aquatic Species Program (ASP)”[4]。经过十多年的努力，从美国西南部采集分离到了 3000 株微藻，并对其中生长速度快、脂肪含量高的微藻进行了实验性的规模培养，这一项目的实施大大推动了微藻可再生能源的研发工作。日本国际贸易和工业部从 1990 年开始开展了名为“the Research for Innovative Technology of the Earth program (RITE)”的项目[4]，利用微藻来固定 CO_2，并着力开发密闭光合生物反应器技术，通过微藻来吸收火力发电厂烟气中的 CO_2 以生产高附加值的生物能源。20 多个私人公司和政府的研究机构参与了该项计划，十年间共投资大约 25 亿美元，分离出 10 000 多株微藻并筛选出多株耐受高 CO_2 浓度、高温、生长速度快、能形成高细胞密度的藻种，建立起了光合生物反应器技术平台。新西兰 Blenheim 生物燃料公司利用微藻进行废水处理，处理废水后所获得的微藻生物质转化为生物燃料[5]。目前，该公司正与新西兰航空和波音公司秘密合作，拟创造出世界上第一个以微藻生产的环保航

空燃料的成功范例。2007 年，美国推出了微型曼哈顿计划，其宗旨是向海洋藻类要能源，以帮助美国摆脱严重依赖进口石油的窘境[6]。微型曼哈顿计划由美国点燃燃料公司倡导发起，以美国国家实验室和科学家的联盟为主体，到 2010 年实现藻类产油的工业化，达到每天生产百万桶生物原油的目标。为此，美国能源部以圣地亚国家实验室牵头，组织十几家科研机构的上百位专家参与这一宏伟工程。

尽管如此，为了尽快实现微藻产油的工业化生产，尚有几个问题需要解决：

1）对微藻光合作用机制的解析：通过剖析微藻的光合作用过程，解析其光合作用机制，以进一步通过现代生物学手段消除光饱和现象，减少光抑制和光氧化损伤，提高微藻实际光合作用效率。

2）光反应器工程：目前在微藻培养方面设计了各种光反应器，如跑道池、管式反应器、平板反应器等，但究竟何种光反应器更适合微藻大规模培养，更容易发挥微藻的最大潜能，迄今尚无定论。因此，设计和制造新型光反应器，以提高微藻大规模培养效率是摆在我们面前的又一个重大难题。

3）微藻在培养过程中的贴壁问题，封闭培养中的散热问题，开放培养过程中的染菌问题和封闭培养过程的成本问题等。

参 考 文 献

[1] Chisti Y. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances，2007，25：294-306

[2] Dismukes GC，et al. Aquatic phototrophs：efficient alternatives to land-based crops for biofuels. Current Opinion in Biotechnology，2008，19：235-240

[3] Banerjee A，et al. Botryococcus braunii：A renewable source of hydrocarbons and other chemicals. Critical Reviews in Biotechnology，2002，22：245-279

[4] Sheehan J，et al. A Look Back at the U. S. Department of Energy's Aquatic Species Program Biodiesel from Algae. National Renewable Energy Laboratory. NREL/TP-580-24190，1998

[5] Jesmer G，et al. WMU Researchers Create Biofuels from Waste Oil & Algae. http：//www. renewableenergyworld. com/rea/news/article/2008/04/wmu-researchers-create-biofuels-from-waste-oil-algae-52163

[6] Anderson M. MIT's Energy 'Manhattan Project'. http：//www. wired. com/science/Discoveries/news/2006/08/71574

撰稿人： 欧阳平凯

南京工业大学

审稿人： 曹竹安　林章凛

“吃干榨尽”低劣生物质

Complete Conversion of Waste Biomass

低劣生物质资源主要是指农业生产过程中产生的废弃秸秆、养殖业产生的粪便、城市生活垃圾和生活污水，以及工业生产过程中的有机废水等。据统计，我国养猪数量占世界 51%[1]，养殖家禽数量则占世界 20%以上[2]。据估计，1 头猪的粪便排放量相当于 7 个人，而 1 只鸡的 BOD（Biochemical Oxygen Demand，生化需氧量）排放量则相当于 0.7 个人。如此庞大的养殖业，再加上庞大的人口数量，我国每年的粪便排泄总量极其巨大。目前，我国大部分粪便均直接排放，流入到了水体中，造成了严重的水体污染，导致了水体的富营养化问题。

当前我国的许多城市已被垃圾包围，很多河流水质恶化，均是由这些废弃生物质引起。但同时，它们又是一种资源，含有丰富的有机质和营养物质，如蛋白质、脂肪等，如果不对它们加以处理利用，不仅会造成环境污染，还是资源浪费。如能对它们加以高效利用，如生产生物燃气，产生的沼渣、沼液可用作优质农家肥，实现生态农业的良性化发展，在成功解决环境、卫生等问题的同时还可生产可观的清洁能源，可谓一举多得。

生物燃气作为一种可再生能源，其主要成分为甲烷，最突出特点就是清洁，能有效地利用有机垃圾、人畜粪便、废弃农作物秸秆等低劣生物质原料。由于生物燃气符合可持续发展的要求，以及其具备的绿色、清洁、环保等特性，欧盟、日本、美国等发达国家和地区越来越青睐于生物燃气的使用，并已在气体储存、运输和输送方面奠定了良好的工作基础。鉴于此，欧盟开展了生物燃气计划[3]，日本则启动了 Lotus 计划[4]。据报道，2006 年，欧盟地区生物燃气的产量约为 530 万 t 石油当量，同比增长 13.6%，并已开始作为汽车燃料进行规模应用。

我国对生物燃气的开发利用起步于 20 世纪 50 年代，在农村主要用粪便和农作物秸秆制取沼气。而在大中型沼气工程中，我国更多的是将各种工业废水的治理和沼气生产结合起来，虽然取得了一些成绩，积累了较为丰富的经验，但产业规模小、系统集成化低，无法适应大规模工业化的需要。我国现阶段随着工农业生产的发展、人口迅速增长、工业有机废弃物、农村养殖、种植、生活废弃物、城市生活垃圾和废水等的大量产生，不但已造成严重的环境污染，而且还导致大量资源浪费。据估算，目前我国仅禽畜粪便资源总量就有约 8.5 亿 t，若将其转化为生物燃气可折合超过 7840 万 t 标准煤[5]。2007 年，内蒙古蒙牛集团建成了全球最大的畜禽类沼气发电厂，可日产沼气 1.2 万 m^3，日发电 3 万 kw • h，每年可向国家电网

提供 1000 万 kW·h 的电力，还可生产有机肥约 20 万 t[6]。

尽管如此，当前我国在低劣废弃生物质生产生物燃气方面的研究还存在如下问题：

1）资源集中化问题：由于农业的自身特点，秸秆生产处于一种分散的模式，其采集比较困难，这就直接导致了生物燃气生产成本的提高。

2）高效秸杆消化技术：由于木质纤维素的特殊结构，秸秆消化过程往往非常缓慢和低效，导致燃气生产效率低，无法适应大规模工业化生产。在生物燃气生产过程中，如何对秸秆进行高效消化？

3）菌群的适应性与群落优化：在生物燃气生产过程中，微生物如何适应不断变化的环境，如温度、原材料组成等？另外，微生物群落中，各种微生物如何自我调节、协同作用等？

4）如何实现低劣生物质的综合利用，做到“吃干榨尽”，把废弃物的排放降到最低？

参 考 文 献

［1］ 范敬群．我国养猪量占世界一半．长江日报，2007.04.25

［2］ 中国首席兽医师称禽流感大面积发生可能性较小．http：//news.sina.com.cn/c/2006-07-07/021810352252.shtml

［3］ Europe Environment. European Biogas Project. http：//www.accessmylibrary.com/coms2/summary _ 0286-15506642 _ ITM

［4］ Jfeenjiniaringu Ataka Constr，Eng.Co.，Ltd.，JPN，Kajima Corp.，JPN，Dainen. LOTUS Project. Low running cost-type gas power generating system based on mixed digestion. Efficient energy recovery from sludge and garbage. Environmental Solution Technology，2005，4（7）：56-58

［5］ 生物质能资源．http：//baike.baidu.com/view/41482.htm

［6］ 张春鹏．全球最大畜禽类沼气发电厂在内蒙古投产．http：//www.cnki.com.cn/Article/CJFDTotal-SWJG200802008.htm

撰稿人：欧阳平凯

南京工业大学

审稿人：曹竹安　林章凛

微生物合成的聚合物
——应用生物材料
Polymers Synthesized by Microorganisms：Applied Biomaterials

生物合成的聚合物及其衍生物对生命来说具有重要的意义，生命体可以合成各种类型的聚合物，按照其化学结构可以将其分为 8 个大类：①核酸，如核糖核酸和脱氧核糖核酸；②聚氨基化合物，如蛋白质和聚氨基酸；③多糖，如纤维素、淀粉和黄原胶；④有机聚氧酯，如聚羟基脂肪酸酯、聚苹果酸和角质；⑤聚硫酯，这是最近才有报道的；⑥以聚磷酸为代表的无机聚酯；⑦聚异戊二烯，如天然橡胶或者杜仲胶；⑧聚酚，如木质素和腐殖酸。这些聚合物正在被人们开发为各种用途的高分子材料。这些高分子材料有着特殊的性能，包括可降解性、生物相容性和手性等。有些材料如蜘蛛丝是一种蛋白质，强度惊人，被称为“生物钢”。而纤维素是世界上产量最多的可再生材料，也有很高的机械强度，广泛应用于日常生活中。

在各种生物机体中均存在着生物聚合物，而且对于绝大多数机体来说，其细胞干重的很大部分是其中生物聚合物的干重。生物聚合物对于机体来说具有广泛的作用：转化和表达基因信号，催化生物反应，贮存碳、氮、磷等营养成分和能量，提供在其他细胞或有害外在环境、内在因子攻击下的抵御和保护，生物及非生物信号的转导，与环境和其他生物的联系，以及黏附于其他生物或非生命体系表面等。另外，许多生物聚合物是细胞、组织甚至整个机体的结构组成部分。

为了执行这些不同的功能，生物聚合物必须具有各种各样的性质，必须可以与各种不同底物、组分和材料特异性地发生相互作用，并且通常表现出极强的亲和性。而且，多数生物聚合物具有较高的强度。这些特性为其在各方面的应用提供了可能。这种可能及其可再生性使生物聚合物成为工业生产关注的焦点。

此外，通过微生物转化的方法，也能获得生物高分子材料或单体，然后进一步聚合成高分子材料。目前这类生物材料主要包括聚羟基脂肪酸酯（PHA）、聚乳酸（PLA）、聚丁二酸丁二酯（PBS）、生物乙醇（PE）、生物尼龙（PTT）、生物导电材料（PPP）和聚氨基酸等。它们中的至少一个单体可以用微生物发酵获得。由于篇幅的限制，本节主要介绍 PHA。

聚羟基脂肪酸酯（polyhydroxyalkanoates，PHA）是微生物体内的一类 3-羟基脂肪酸组成的线性聚酯，外观是一种细胞内涵体（图 1），其基本结构如图 2 所示。其分子质量多为 50 000～20 000 000Da。单体的羧基与相邻单体的羟基形成酯键。单体皆为 R-构型。不同的 PHA 的主要区别在于 C-3 位上不同的侧链基团，以

侧链为甲基的聚 3-羟基丁酸（PHB）最为常见。

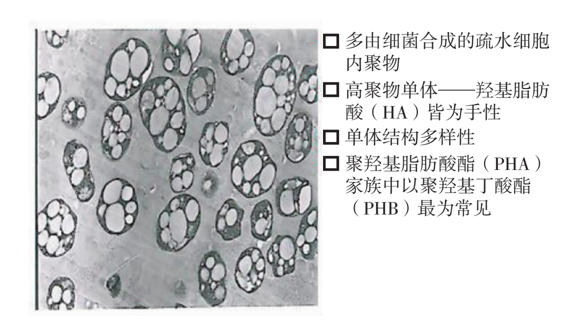


图 1　PHA 是一种渗透压惰性的细胞内涵高分子物质（图中白色颗粒）

$$-\Big[\underset{\displaystyle R}{\underset{|}{\overset{*}{C}H}}-(CH_2)_m-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-\Big]_n-O-$$

图 2　PHA 的结构通式

其中 n=1、2、3 或 4；通常 m=1，即为聚-3-羟基脂肪酸酯。n 表示聚合度，决定分子质量的大小。R 是可变基团，可为饱和或不饱和、直链或含侧链及取代基的烷基。* 代表手性碳原子

PHA 在胞内的大量积累不会影响细胞内的渗透压，所以是一种理想的储能材料。而当环境中缺乏碳源、其他营养元素充足时，PHA 又可作为碳源被降解和重新利用。低分子质量 PHB 的发现表明这种聚合物还有更多的生理功能。这种 PHB 的分子质量约为 13 000Da，即由约 150 个单体组成，被称为寡聚 HB（OHB），是细胞质膜组成成分。已经发现 OHB 与其他生物大分子连接在一起并在许多生物体内广泛分布[1]。对 PHA 生物合成相关基因、结合在 PHA 颗粒上的辅助结构蛋白和对 PHA 降解酶名字的建议也已经被接受并且在文献中广泛引用[2]。

20 世纪初，在褐球固氮菌（*Azotobacter chroococcum*）中发现了一种亲苏丹染料、可溶于氯仿的类脂肪包涵体，其后在巨大芽胞杆菌（*Bacillus megaterium*）中又发现了类似的包涵体，其组成被 Lemoigne 鉴定为聚-D-3-羟基丁酸（poly-D-3-hydroxybutyric acid，PHB）[3]。70 年代，除了 3-羟基丁酸（3HB）之外，其他 PHA 单体，如 3-羟基戊酸（3-hydroxyvalerate，3HV）被发现[4]。80 年代，在细菌合成的 PHA 中发现了更长碳链的单体，如 3-羟基己酸（3-hydroxyhexanoate，3HHx）、3-羟基辛酸（3-hydroxyoctanoate，3HO）、3-羟基癸酸（3-hydroxydecanoate，3HD）和 3-羟基十二酸（3-hydroxydodecanoate，3HDD）等单体（图 3）。之后在众多的 PHA 合成菌中发现了更多新的单体，到 2000 年，已报道超过 150 种的 PHA 单体[5]。

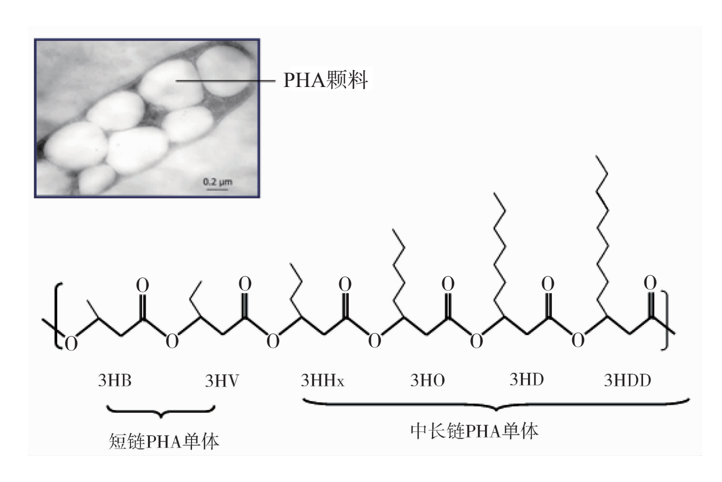


图 3　常见的 PHA 单体

包括 D-3-羟基丁酸（D-3-hydroxybutyric acid，3HB）、3-羟基戊酸（3-hydroxyvalerate，3HV）、3-羟基己酸（3-hydroxyhexanoate，3HHx）、3-羟基辛酸（3-hydroxyoctanoate，3HO）、3-羟基癸酸（3-hydroxydecanoate，3HD）和 3-羟基十二酸（3-hydroxydodecanoate，3HDD）等单体。3HV 以下为短链单体，3HHx 以上为中长链单体

PHA 的单体大多数是链长 3～14 个碳原子的 3-羟基脂肪酸，还有 4-羟基和 5-羟基脂肪酸。侧链 R 是高度可变的基团，大部分是直链的烷基，有些含有侧链。多数为饱和键，也有不饱和键。有些 R-基团还有苯环、卤素、氰基等取代基团。

根据单体的碳原子数，将 PHA 分为两类：短链（short-chain-length，SCL）PHA，其单体由 3～5 个碳原子组成，如 PHB、聚羟基戊酸酯（polyhydroxyvalerate，PHV）等；中长链（medium-chain-length，MCL）PHA，其单体由 6～14 个碳原子组成，如聚羟基己酸酯（polyhydroxyhexanoate，PHHx）、聚羟基辛酸酯（polyhydroxyoctanoate，PHO）等[6,7]（图 3）。大多数微生物只能合成其中一类 PHA。一般认为，PHA 单体的碳原子数不同是由 PHA 合成酶的底物特异性决定的。近十年来，由短链和中长链单体组成的 PHA 聚合物引起了学术界和产业界越来越多的关注，已经发现了 3HB 与 3HHx 单体的共聚物——聚羟基丁酸羟基己酸酯［poly（3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate），PHBHHx］及 3HB 和其他超过 6 个碳原子的 3-羟基脂肪酸（3-hydroxyalkanoate，3HA）组成的共聚物[6,7]。

可将 PHA 分为同聚物（homopolymer）和共聚物（copolymer）两类：前者只有一种单体，如 PHB、PHV 等；后者含有两种或两种以上的单体。如 PHBHHx、以 3HB 和 3HV 为单体的聚羟基丁酸羟基戊酸酯［poly（3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate），PHBV］等。PHA 的结构是在与其单体结构相关的底物培养中

获得的，这使得合成多种结构的 PHA 成为可能（图 3）。

那些区别于具有常见结构单体如 PHB、PHBV、P（3HB-4HB）和 PHBHHx 等的 PHA 可以称为具有特殊结构的 PHA 或非常见 PHA。它们主要包括含有 6～16 个碳原子的各种饱和、非饱和、直链或支链 3-羟基脂肪酸，它们具有脂肪族或芳香族的侧链，而且侧链上还可以带有许多不同的侧链功能基团，如卤素原子、羟基、环氧基、腈基苯基、硝基苯基、羰基和苯基等（图 4）[8]。

图 4　微生物合成的一些非常见 PHA 的单体结构[8]

2001 年，首例主链带硫（—S—）的 PHA 被微生物合成出来了（图 5）。它是一种被称为聚硫代酯（polythioesters，PTE），具有和 PHA 类似结构的聚酯。除了核酸、聚酰胺、聚多糖、聚磷酸、聚酚、聚类异戊二烯和聚羟基脂肪酸酯这已知的 7 种生物大分子外，聚硫代酯（PTE）的出现代表了迄今为止还不知道的第 8 种生物大分子[9]。非常有趣的是，PTE 的合成利用的正是 PHA 的生物合成系统，而且 PTE 的合成酶正是 PHA 合成酶（PhaC），这也更加充分地证明了 PHA 合成酶（PhaC）广泛的底物适应性。

3HB　3MP

3HB　3MB

3HB　3MV　3HV

图 5　带有 3-巯基丙酸（3MP）、3-巯基丁酸（3MB）、3-巯基戊酸（3MV）和 3-羟基丁酸（3HB）的共聚物[9]

由此可见，微生物的合成能力是惊人的。只要有适当的底物，有特异性低的 PHA 合成酶，就能合成出结构与底物相关的 PHA 单体。如果 PHA 含有功能团，那么还可以对 PHA 结构进行进一步的化学修饰，产生新的材料结构，带来新的性能。在这方面，需要材料、微生物以及化学专家合作，进行结构的设计。由此正在形成一个以 PHA 为中心的生物与材料产业（图 6、图 7）[10]。

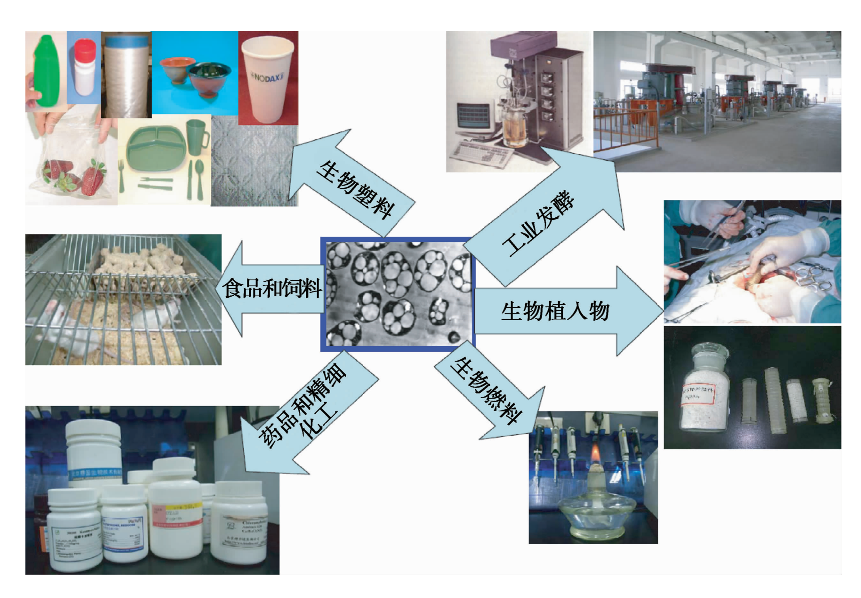


图 6　以 PHA 为中心的生物与材料产业[10]



图 7　以 PHA 为主要材料制成的容器

参 考 文 献

[1] Reusch RN, Sadoff HL. Putative structure and functions of a poly-β-hydroxybutyrate/calcium polyphosphate channel in bacterial plasma membranes. PNAS, 1988, 85: 4176-4180

[2] Bernd HA, Rehm A, Steinbüchel A. Biochemical and genetic analysis of PHA synthases

and other proteins required for PHA synthesis. Int J Biol Macromol，1999，25：3-19

[3] Lemoigne M. Products of dehydration and of polymerization of β-hydroxybutyric acid. Bull Soc Chem Biol，1926，8：770-782

[4] Wallen LL，Rohwedder WK. Poly-β-hydroxyalkanoate from activated sludge. Environ Sci Technol，1974，8：576-579

[5] Sudesh K，Abe H，Doi Y. Synthesis，structure and propreties of polyhydroxyalkanoates：biological polyesters. Prog Polym Sci，2000，25：1503-1555

[6] Kunikoa M，Nakamura Y. Doi Y. New bacterial copolysters produced in *Alcaligenus eutrophus* from organoic acid. Polym Commun，1988，29：174-176

[7] Huisman GW，Deleeuw O，Eggink G，et al. Synthesis of PHA is common feature of *Fluorescent Pseudomonas*. Appl Environ Microbiol，1989，55：1948-1954

[8] 陈国强，罗容聪，徐军等，聚羟基脂肪酸酯生态产业链. 北京：化学工业出版社，2008

[9] Lütke-Eversloh T，Steinbüchel A. Microbial polythioesters. Macromol Biosci，2004，4：165-174

[10] Chen GQ. A polyhydroxyalkanoates based bio-and materials industry. Chem Soc Rev，2009，38：2434-2446

撰稿人： 陈国强

清华大学

审稿人： 曹竹安　陈　坚

活性污泥和高效降解微生物在处理废水中的应用及问题

The Application of Activated Sludge and Effectively Degradating Microorganisms on Wastewater Treatment and its Problem

活性污泥法是现代污水处理中应用最广泛的方法之一。能够处理有机废水的微生物絮体叫作活性污泥，包括好氧污泥和厌氧污泥[1]，由微生物（包括细菌、真菌）、原生动物、后生动物及其代谢和吸附的有机物、无机物组成。活性污泥中的微生物主要由细菌（菌胶团细菌及丝状细菌）组成，占污泥中微生物总重量的90%～95%左右。废水生物处理过程中，有机物从污水中去除过程的实质是有机底物作为营养物质被微生物吸附、摄取、代谢与利用的过程。式（1）～式（3）表示微生物对有机物的代谢过程。

$$C_xH_yO_z+\left(x+\frac{y}{4}-\frac{z}{2}\right)O_2 \xrightarrow{\text{酶}} xCO_2+\frac{y}{2}H_2O-\Delta H \tag{1}$$

被吸附在微生物细胞表面上的有机底物在酶的作用下，一部分最终形成CO_2和H_2O等稳定物质，并生成合成新细胞物质（原生质）所需要的能量。

$$nC_xH_yO_z+nNH_3+n\left(x+\frac{y}{4}-\frac{z}{2}-5\right)O_2 \longrightarrow (C_5H_7NO_2)_n+n(x-5)CO_2+\frac{n(y-4)}{2}H_2O-\Delta H \tag{2}$$

与此同时，对另一部分有机底物产生的能量进行合成代谢，形成新的细胞物质。

$$(C_5H_7NO_2)_n+5nO_2 \xrightarrow{\text{酶}} 5nCO_2+2nH_2O+nNH_3+\Delta H \tag{3}$$

当有机底物消耗殆尽时，微生物对自身细胞进行氧化分解并产生能量。分解代谢的产物是CO_2和H_2O，而合成代谢的产物则是新的微生物细胞，并以剩余污泥的方式排出活性污泥处理系统。这些污泥中还包含着未被降解的多种污染物，所以处理和处置这些污泥也是一大难题。针对污泥处理过程中的环境问题，20世纪90年代提出了剩余污泥减量化的概念。污泥减量化是使整个污水处理系统在保证污水处理效能的前提下，采用适当的物理、化学、生物等方法，使向外排放的生物量达到最少，从而实现从“源头”上减少污泥的产量。目前污泥减量化技术已经成为国内外的研究热点。

1 基于微生物隐性生长的污泥减量技术

微生物基于自身细胞溶解产物的生长方式称为隐性生长。整个过程包含了溶胞和生长，其中溶胞为限速步骤，因此溶胞效率的提高能够导致污泥产量的减少。利用各种物理、化学等溶胞技术，使细菌能够迅速死亡并分解成为基质再次被其他细菌所利用是污泥减量过程中广为应用的手段[2]，包括臭氧氧化污泥减量技术、氯氧化污泥减量技术、超声波污泥减量化技术、Fenton 试剂法等。

2 基于代谢解偶联的污泥减量化技术

微生物的分解代谢过程能够分解复杂的有机物产生能量，合成代谢则利用这些能量合成细胞需要的物质，其中能量转化是以 ATP 的形式来实现的。对于好氧微生物，ATP 主要是由氧化磷酸化产生的，在这个过程中电子通过电子传递系统从电子供体（底物）转移到电子受体（O_2）。通过限制呼吸速率，细菌的分解代谢和合成代谢偶联在一起，能量的产生最大化地为微生物生长服务。然而，若呼吸作用的控制不存在，则取而代之的是合成过程的速率受到限制，那么就会发生代谢解偶联，剩余的自由能量因不能由合成代谢所利用，从而引起生物量的产量减少。

在某些条件下，如存在质子载体、重金属、剩余能量、异常温度、营养物质缺乏和好氧/厌氧交替循环时，可导致代谢解偶联的发生。这种解偶联方法将加大分解代谢和合成代谢之间在能量供需上的矛盾，从而使供给合成代谢的能量受到限制。当能量解偶联发生时，就会出现生物增长量的减少，即表现为污泥减量。可以通过投加解偶联剂、好氧—沉淀—厌氧（OSA ）工艺、高 S_0/X_0 条件下的解偶联、高浓度溶解氧的解偶联作用、同时解偶联污泥减量和脱氮集成工艺达到污泥减量的目的。

3 基于微型动物捕食作用的污泥减量技术

生物捕食污泥减量工艺具有较好的污泥减量效果，与其他物理、化学污泥减量技术相比，具有低成本、无污染的优点，有较好的应用前景。可以通过接种微型动物、生物相分离工艺来达到污泥减量的目的，但还需要解决下列问题：①鉴于微型动物对环境的敏感性，应控制适合微生物生长的环境；②由于微生物摄食还会造成氮、磷的释放，对氮、磷没有去除作用，因此要结合其他方法同时进行脱氮除磷的研究；③利用先进的生物技术手段来揭示生物捕食过程中捕食生物和细菌的关系，以及基质在生物体内的转化规律；④是否有新的物质随出水释放到环境中；⑤工艺的持久性，即工艺是否运行很长一段时间后仍没有剩余污泥产生。

4 基于维持代谢的污泥减量技术

1965 年，Pirt 把微生物用于维持其生命功能的这部分能量称为维持代谢能量，这部分能量将用来完成包括细胞物质的交换、主动运输、自身的位置移动等基本的生命活动。这种代谢对于污泥减量化的重要作用在于污水有机基质的消耗未被合成新的细胞组分。可通过延长污泥停留时间 SRT 和降低污泥负荷率（F/M）使能量的供给在理论上等于维持代谢能量，从而达到污泥减量的目的[3]。

在废水处理中通过直接向废水处理系统中投加从自然界中筛选的优势菌种或通过基因重组技术产生的高效菌种，以改善原处理系统的能力，达到对某种或某一类有害物质的去除或某方面性能优化的目的，最终提高系统的处理能力。高效菌的投加可以很好地发挥微生物的潜力，有效地解决废水中的难降解有机物以及传统污水处理工艺中的缺点[4]。

目前发现和人工构建的高效微生物降解菌株已有较多的报道。如 Joo 发现异养硝化和缺氧反硝化产碱杆菌 No4 能够在缺氧的条件下实际处理高浓度氨氮养猪场废水。在连续试验中能够达到 2000 NH_4^+-N mg/L 和 12 000 COD mg/L 去除，铵的去除率达到 30 mg-N/L/h，是其他菌种的 5～10 倍[5]。Aulenta 从污泥中培养了可以以高浓度的氯乙烯（VC）作为唯一碳源的菌种，对于生物强化技术是一种良好的菌种。首先是 1～2 月的适应期，以 0.02mmol VC/L 为起始浓度培养。然后 VC 浓度逐渐从 0.02mmol/L 增至 0.8mmol/L，可以长时间（超过 500 天）保持 VC 的降解能力[6]。Ivanov 用从富集的环境中分离出来菌株肺炎克雷伯菌菌株 B 和维罗纳假单胞菌菌株 F 添加到活性污泥中，在连续反应器中 8 天后形成好氧颗粒污泥，将其形成周期从几周缩短至几天[7]。

用特定的有效微生物强化可提高废水生物处理系统中难降解有机物的降解效率、改善系统脱氮除磷效率、提高系统稳定性等。高效微生物筛选是生物强化技术成功的决定性因素。改进传统高效菌种筛选时以目标污染物的降解为唯一手段，结合微生物的遗传特征、污染物的可生物降解性和生物修复速率等多方面因素，可开发出能够维持异常代谢特征或对化学污染物或环境压力具有更好耐受性的高效菌种。通过分析环境微生物菌群的组成和结构、微生物的生态环境、种群结构和数量变化，筛选具有高效降解性能、良好生态适应性、能在目标污染地维持相当持久性和活性的微生物菌株作为生物强化接种体。

利用基因工程手段构建具有高效降解性能的土著微生物，或直接利用具有代谢性能的可移动基因组分进行强化，可避免与土著微生物竞争资源和空间，是未来的发展方向。

分子生物学技术在构建高效微生物中发挥重大作用，而且是监控、探测、分析

高效微生物在新的生态系统中种群结构多样性及变化的有力工具。以16S rRNA目标寡核苷酸探针的荧光定量杂交（FISH）[8,9]、变性梯度凝胶电泳和温度梯度凝胶电泳（DGGE/TGGE）[10]等分子生物学手段与微生物生态学相结合[11]，已经成为研究给定环境中微生物菌群行为和生物强化后整个环境生态的重要学科。

另外，实践中常将具有不同降解功能的菌株相互组合成菌群可以用于废水处理，该类菌群中微生物之间相互耦合协同发挥作用的机理研究也是目前国内外环境微生物研究的热点和重点。

参 考 文 献

［1］ Benedict RG，Carlson DA. Aerobic Heterotrophic Bacteria in Activated Sludge. Water Research，1971，5，1023-1030

［2］ Lee J W，Cha H Y，Park K Y，et al. Operational strategies for an activated sludge process inconjunction with ozone oxidation for zero excess sludge production during winter season. Water Res，2005，39（7）：1199-1204

［3］ 何赞．污泥减量化水处理技术的研究进展．中国给水排水，2009，25（8），1-7

［4］ Huban CM，et al. Bio-augmentation put microbes to work. Chemical Engineering，1997，104（3）：74-84

［5］ Joo HS. Piggery wastewater treatment using Alcaligenes faecalis strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic de-nitrification. Water Research，2006，40（16）：3029-3036

［6］ Aulenta F. Aerobic mixed cultures capable to degrade vinyl chloride (VC) as the sole carbon source. Annali Di Chimica，2003，93（4）：337-346

［7］ Ivanov V. Bio-augmentation and enhanced formation of microbial granules used in aerobic wastewater treatment. Applied Microbiology and Biotechnology，2006，70（3）：374-381

［8］ Boon N，Top EM，VerstraeteW，et al. Bioaugmentation as a tool to protect the structure and function of an Activated-sludge microbial community against a 3-chloroa-niline shock load. Appl Environ Microbiol，2003，3：1511-1520

［9］ Heinaru E，Merimaa M，Viggor S，et al. Biodegradation efficiency of functionally important populations selected for bioaugmentation in phenol-and oil-polluted area. FEMS Microbiol Ecol，2005，51：363-373

［10］ Fouratt MA，Rhodes JS，Smithers CM，et al. Application of temperature gradient gel electrophoresis to the characterization of a nitrifying bioaugmentation product. FEMS Microbiol Ecol，2003，43：277-286

［11］ Head MA，Oleszkiewicz JA. Bioaugmentation for nitrification at cold temperatures. Water Res，2004，38：523-530

撰稿人：沈树宝

南京工业大学

审稿人：孙际宾　陈　坚

发酵生物制氢与微生物电解池制氢

Dark Fermentation and Microbial Electrolysis for Efficient Bio-hydrogen Production

生物制氢是利用微生物自身的生理作用，在一定的环境条件下，通过微生物的代谢活动产生氢气的现象。1931 年，Stephenson 首次报道了在细菌中含有氢化酶（hydrogenase）[1] 以催化氢的可逆氧化还原反应：$H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$。1966 年，Lewis 提出生物制氢的想法。到 20 世纪 70 年代，由于世界性能源危机的出现，微生物制氢的实用性才得到重视，期间进行了大量的研究工作。但是到了 80 年代，随着石油价格的下降，生物制氢的研究工作又进入了一个低潮。90 年代之后，随着人们对化石燃料埋藏量的有限性及其使用加剧世界环境污染问题的认识加深，使得世界再一次把目光聚焦在微生物制氢技术上。目前，生物制氢已成为生物技术的前沿研究方向之一。

迄今为止，已报道的产氢微生物包括了光合生物（厌氧光合细菌、蓝细菌和绿藻）、非光合生物（严格厌氧细菌、兼性厌氧细菌和好氧细菌）和古细菌类群。按照微生物代谢产氢机制的不同，生物制氢过程可以分为三类：①利用藻类或者青蓝菌的生物光解水法；②利用有机化合物的光合细菌光分解法；③利用有机化合物的发酵制氢，也叫暗发酵制氢。从生物制氢的概念提出以来，国际上一直把研究重心放在光反应生物制氢上，直到 20 世纪末才把注意力转移到厌氧暗发酵制氢技术上。与利用光裂解制氢相比，发酵制氢过程具有微生物增殖速度快、产氢速率高、不受光照时间限制、可利用的有机物范围广、工艺简单、易实现工业化等诸多优点[2]，因此发酵制氢法更具有发展潜力。但发酵制氢的关键科学问题是如何理解细胞代谢和调控网络的复杂性，提高氢气转化率或氢气得率。

以葡萄糖为底物，发酵生物制氢理论氢产率可用如下反应方程进行分析：

$$C_6H_{12}O_6 + 4H_2O \longrightarrow 2CH_3COO^- + 2HCO_3^- + 4H^+ + 4H_2$$

以上式进行反应的最大氢气转化率为 4mol-氢气 ·（mol-葡萄糖）$^{-1}$。除了用于产氢外，葡萄糖中所含有的其他氢将会以副产物的形式转化为乙酸，而在不理想的情况下，还会转化为乙醇、乳酸等。目前只有嗜热产氢菌的氢气转化率接近于 4mol-氢气 ·（mol-葡萄糖）$^{-1}$ 的理论最大转化率，但是嗜热菌生长缓慢、培养耗能高、发酵控制难度大，限制了它的应用。对于常规的产氢菌种，如肠杆菌属和梭菌属其转化率均为 1～2.5mol-氢气 ·（mol-葡萄糖）$^{-1}$，仅为理论转化率的 25％～65％。

理论上，葡萄糖完全氧化的话，1mol 葡萄糖可以生成 12mol 氢气，因此我们

面临的关键问题是如何在微生物细胞内突破生物制氢转化率低的瓶颈。Woodward 等学者用 10 种商业用酶使戊糖磷酸盐循环与氢酶产氢过程相耦合，通过构建完整的非细胞酶反应系统成功实现了氢气的高转化率，使产氢达到 11.6mol-氢气·(mol-葡萄糖)$^{-1}$[3]，证明了实现高氢气转化率的可能性。然而，作为非细胞的酶反应体系，这一系统反应速度很慢，酶成本高、容易失活，酶的匹配性及可控制性差，而且也不具实际应用的经济性。如何在细胞体系内通过揭示生物制氢的代谢调控机制，合理地重构代谢途径和调控代谢网络，突破厌氧发酵制氢 4mol-氢气·(mol-葡萄糖)$^{-1}$的瓶颈，是发酵生物制氢的前沿科学问题。

可能的解决途径之一：超级产氢菌种的代谢途径设计。生物制氢的本质是在缺氧或厌氧状态下，微生物把质子还原为氢气以消除初级代谢所产生的剩余还原力。通过代谢工程改造，特别是面向细菌能量代谢过程的改造，有可能使细菌代谢所产生的所有还原力（NADH）都能够被质子平衡形成氢气。NADH 在氢化酶作用下转化为氢气的途径被称为 NADH 途径[4]，该机理的细节问题目前仍为未知数，但由于其具有高效产氢的潜力，是生物制氢值得深入研究的重要问题。如果在厌氧状态下完全按照这一途径进行产氢，由于葡萄糖厌氧酵解将产生 4 个 NADH，则理论最大转化率为 4mol-氢气·（mol-葡萄糖）$^{-1}$，而此时唯一的副产物是乙酸。特别是在具有氢化酶和产氢能力的兼性厌氧菌中，好氧代谢时 EMP 途径和 TCA 循环总共产生 10 个 NADH，如果好氧状态下产生的 NADH 能够全部被氢化酶所利用，那么理论最大转化率将达到 10mol-氢气·（mol-葡萄糖）$^{-1}$，这一途径不副产乙酸，是理论上可以实现的更高效的产氢途径。如果能够实现这一理论转化率，将是发酵制氢领域的重要技术突破，具有非常重要的理论意义和工业应用前景。关键在于如何实现 NADH 定向地被氢化酶所利用，最终形成氢气。特别是在有氧状态下，由于氢化酶将很快失活，如何创制出耐氧的氢化酶并将有氧状态下的 NADH 生产以及厌氧状态下氢气转化这两个过程有机衔接，是实现 NADH 途径高效产氢的关键问题。

可能的解决途径之二：微生物电解池（MEC）制氢。如果按照正常的细菌代谢途径，除了用于产氢外，葡萄糖中所含有的其他氢将会以副产物的形式转化为乙酸。如果能直接把乙酸等物质转化为氢气，也能够实现从葡萄糖到氢气的高转化率。BE Logan 等发明的微生物电解池（MEC），能够在向电池供应微量电力的情况下，实现乙酸等物质向氢气的转化[5]，显著提高葡萄糖到氢气的转化率。MEC 存在的问题是该过程反应速度很慢，细胞内代谢反应产生的电子流向电极的可控性低，而且胞内电子流向胞外的机理未知。由于需要组装微生物燃料电池，过程放大及其经济性也是需要着重考虑的问题，因此未来如何自由地调控胞内电子流向胞外电极，如何实现微生物燃料电池经济可行性的放大，如何提高整体能量回收率，是实现微生物燃料电池制氢的关键问题。

参 考 文 献

[1] Stephenson M，Strickland L. Hydrogenase：a bacterial enzyme activating molecular hydrogen. Biochemical Journal，1931，25：205-214

[2] Benemann J. Hydrogen biotechnology：process and prospects. Nature Biotechnology，1996，14：1101-1103

[3] Woodward J，Orr M，Cordray K，et al. Biotechnology-Enzymatic production of biohydrogen. Nature，2000，405：1014-1015

[4] Zhang C，Ma K，Xing X-H. Regulation of Hydrogen Production by Enterobacter aerogenes by External NADH and NAD^{+}. International Journal of Hydrogen Energy，doi：10.1016/j.ijhydene.2008.11.070（2009）

[5] Liu H，Grot S，Logan BE. Electrochemically Assisted Microbial Production of Hydrogen from Acetate. Environmenta Science and Technology，2005，39：4317-4320

撰稿人：邢新会　张　翀

清华大学

审稿人：欧阳平凯　陈　坚

产烃产油微生物

——21 世纪生物能源的曙光

Hydrocarbon/oil-producing Microorganisms：the Dawn of the 21st Century Bioenergy

随着人类社会的不断发展，面对化石能源的日益枯竭、石油价格的不断上涨、油品供需矛盾的日渐显现和环境污染问题的越发突出，可再生生物能源的开发利用为经济的可持续发展带来了曙光。生物能源作为可再生、污染极小的能源，具有无可比拟的优越性，必将为 21 世纪的经济发展和环境保护注入强大的推动力。

由碳和氢两种元素组成的有机化合物称为碳氢化合物，又叫烃，是石油和煤的主要成分。科学家研究发现自然界中的某些微生物（如红酵母属、木霉菌属等）及微藻在天然培养基上可以直接产生大量成分接近化石柴油的烃类物质（表 1）。人类从 20 世纪 30 年代开始就知道采用各种微生物制造乙烯。

表 1　一些具有产烃能力的微生物

细菌和真菌	微藻
甲烷杆菌属（*Methanobacterium*）	葡萄藻属（*Botryococcus*）
假单胞属（*Pseudomonas*）	盐藻属（*Halophila*）
青霉菌属（*Penicillium*）	小球藻属（*Chlorella*）
红酵母属（*Rhodotorula*）	倒囊藻属（*Anacystis*）
根霉属（*Rhizopus*）	小环藻属（*Cyclotella*）
木霉属（*Trichoderma*）	网翼藻属（*Dictyopteris*）
	念珠藻属（*Nostoc*）

例如甲烷细菌是一类能够经过发酵产生可燃性气体甲烷的厌氧性细菌。已知产甲烷细菌约有 10 多种，主要有产甲烷杆菌、甲烷八叠球菌、产甲烷螺菌和瘤胃甲烷杆菌等。这类细菌常见于沼泽、池溏污泥中，在食草动物的盲肠、瘤胃中也有大量的产甲烷细菌，常随粪便排出，所以在沼气池中可用塘泥和牲畜粪便接种。我国农村不少地区已建起了许多小型沼气池，利用沼气做饭、照明，既解决了燃料困难，又减少了环境污染。

布朗葡萄藻（*Botryococcus braunii*）能够合成大量的烃，其产烃量取决于不同的藻株和培养条件，最高能达到干重的 86%，其烃性质也因不同藻株有所区别。葡萄藻大约能将太阳能的 3%转移到其烃类化合物中。作为一种光合自养生物，它

能固定空气中的 CO_2，但不净增空气中的含量。藻类烃的热值范围是 30 000～42 000kJ/kg,同样转移 100MW 的热量，燃烧葡萄藻的烃类比起煤，每年能降低 1.5×10^5 tCO_2的释放量[1]。

微生物油脂（mcrobial oils）又称为单细胞油脂（single cell oil，SCO），是由微生物在一定的条件下，利用碳水化合物、碳氢化合物和普通油脂作为碳源，在菌体内产生的大量油脂。在适宜条件下，某些微生物产生并储存的油脂占其生物总量的 20％以上，具有这样表型的菌株称为产油微生物[2]。已知细菌、酵母和霉菌中都有能产生油脂的菌株，特别以酵母菌和霉菌类真菌居多[3]（表 2）。

表 2　一些具有良好产油能力的微生物

酵母类	霉菌类
油脂酵母属（*Lipomyces*）	被孢霉属（*Mortierella*）
红酵母属（*Rhodotorula*）	根霉属（*Rhizopus*）
丝孢酵母属（*Trichosporon*）	曲霉属（*Aspergillus*）
隐球酵母属（*Cryptococcus*）	青霉属（*Penicillium*）
	镰刀霉属（*Fusarium*）

细菌在高葡萄糖时产生不饱和甘油酯，但大多数细菌不产而是积累复杂类脂，且产生于细胞外膜上，提取困难，故目前认为产油细菌无工业意义。1973 年，Oliver 等发现海洋细菌中有多不胞和脂肪酸（PUFA）存在。1977 年，Johns 等从海洋细菌多形屈挠杆菌（*Flexibacter polymorphus*）中得到二十碳五烯酸（EPA），证明原核生物同样具有合成多不饱和脂肪酸的能力。目前对细菌的研究主要集中在产多不饱和脂肪酸的深海细菌和极地细菌，对产 PUFA 细菌而言，PUFA 组成和含量与培养温度密切相关，降低培养温度，PUFA 产量则相应提高。

产油酵母菌和霉菌合成的油脂和许多植物油脂相类似，主要是甘油酯和磷脂，甘油酯约占 80％以上，磷脂约占 10％以上。自从第二次世界大战期间发现高产油脂的斯达油脂酵母（*Lipomyces starkeyi*）、黏红酵母属（*Rhodotorula* ）、曲霉属（*Aspergillus*）以及毛霉属（*Mucor*）等微生物以来，科学家又寻找到多种产油菌种并取得突破，为进一步形成生产力提供了技术依据。中国科学院大连化学物理研究所系统筛选了一些具有产油潜力的酵母菌，获得了几株生长旺盛、性能稳定、油脂含量超过细胞干重 55％的酵母。特别值得一提的是，有两株糖源利用谱广、油脂含量高的酵母菌，不仅能代谢六碳糖，还能转化五碳糖（木糖和阿拉伯糖）为油脂。产油酵母菌的这一特性尤其适用于木质纤维素全糖利用，这是目前燃料酒精产业还难以实现的，该项研究成果即转化木质纤维素类生物质为能源产品具有特别重要的意义。希腊学者 Papanikolaou S 等报道利用深黄被孢霉（*Mortierella isabellina*）在氮源缺陷型培养基中进行高浓度糖发酵（初始糖浓度达 100g/L），深黄被孢霉生

物量达到 35.9g/L，油脂产量达到 18.1g/L，显示出很好的应用前景[4]。在酵母、霉菌等真核微生物中，某些产油种属能积累占其生物总量 70%以上的油脂。其中以甘油三酯（triacylglyceol，TAG）为主，约占 80%以上，磷脂约占 10%以上。

含油藻类同样是潜在的油脂生产者，在一些藻类中含有极其丰富的脂类物质，如小球藻（*Chlorella*）、硅藻（*Diatom*）和杜氏藻（*Dunaliena salina*）等，大多含有 30%～50%的脂类，有的甚至高达 85%。据报道，异养培养小球藻（*Chlorella protothecoides*）的含油量可达藻体干重的 57.2%，经快速热解可获得生物油脂[5]。越来越多的科学家认为微藻能源是当今最有开发前途的生物能源之一，希望将其作为重要的清洁替代能源[6]。但微藻属于低等植物，在基因工程改造以及进行高密度培养等技术上还要克服很大的困难。国内外仍然有许多科学家在探索并研制"工程微藻"，希望能实现规模化养殖，降低成本，为获取油脂资源提供一条可靠的途径。

微生物发酵产油大体分两个阶段，即菌体增殖期和油脂积累期。发酵的前期为细胞增殖期，这个时期微生物要消耗培养基中丰富的碳、氮源，以保持菌体旺盛的代谢和增殖过程。当培养基中碳源充足而某些营养成分（特别是氮源）缺乏时，菌体细胞分裂速度锐减，代谢活动转为以消耗碳源并合成和积累油脂为主，这个时期称为油脂积累期。在油脂积累期，微生物基本上不再进行细胞繁殖，而是将过量的碳水化合物转化为烃及脂类。

由于微生物具有细胞增殖快、生产周期短、生长所需的原料丰富和价格便宜等优点，因而产油微生物除可代替动植物油脂生产食用油脂特别是保健类功能性油脂外，还可通过微生物发酵制备烃和微生物油脂，可为生物柴油的制备提供更加廉价而广泛的原料，所以利用微生物直接高效合成烃和微生物油脂成为当前世界各国政府发展生物柴油产业和生物经济的重要研究方向。生物柴油由各种动植物油脂经酯化或转酯化工艺而得，而大部分微生物油的脂肪酸组成和一般植物油相近，以 C_{16} 和 C_{18} 系脂肪酸（如油酸、棕榈酸、亚油酸和硬脂酸等）为主，因此微生物油脂可替代植物油脂生产生物柴油。由于技术经济原因，过去 SCO 很少有规模化生产的报道。但随着工业生物技术的发展，微生物油脂发酵从原料到过程都在不断取得新的进展。最近美国国家可再生能源实验室（NREL）的报告特别指出，微生物油脂发酵可能是生物柴油产业和生物经济的重要研究方向[7]。

微生物产生油脂的过程本质上与动植物产生油脂的过程相似，都是从乙酰 CoA 羧化酶催化羧化的反应开始，然后经过多次链延长或再经过去饱和作用等完成整个生化过程。在此过程中有两个主要的催化酶，即乙酰 CoA 羧化酶和去饱和酶。其中乙酰 CoA 羧化酶催化脂肪酸合成的第一步，是第一个限速酶。此酶是由多个亚基组成的复合酶。结构中有多个活性位点，因此该酶能被乙酰 COA、ATP 和生物素激活。去饱和酶是微生物通过氧化去饱和途径生成不饱和酸的关键酶，这

一过程称之为脂肪酸氧化循环。

国际上对产油微生物 TAG 生物合成和代谢调控机制的研究已取得了重要进展，例如已初步阐明了 AMP 脱氨酶、柠檬酸裂解酶、苹果酸酶等的活性变化与 TAG 积累活动的关系，但仍然存在着许多富有挑战性的研究课题，例如 TAG 合成时主要途径的生理功能、相互关系以及其他旁路在 TAG 生物合成代谢中的作用问题等。目前，人们对产油酵母和产油霉菌利用葡萄糖为碳源积累 TAG 的代谢途径已有了比较深入的认识，当产油微生物培养基中可同化氮源耗尽并且可同化碳源丰富的情况下，其 TAG 积累过程被激活，这个过程涉及微生物代谢和与代谢相关的一系列生理生化过程的变化（图 1）。国内外很多学者尝试利用基因操作技术定向改造代谢途径，构建微生物“细胞工厂”，例如我国学者 Liu Bo 等[8]研究分离产油酵母调控油脂过量积累代谢相关的元件、探索混合糖条件下微生物生长、代谢和产物合成的分子机制。尽管目前对产油微生物 TAG 生物合成和代谢调控机制的研究已取得了重要进展，但尚未见成功地通过基因调控手段增加细胞内油脂含量的例子。

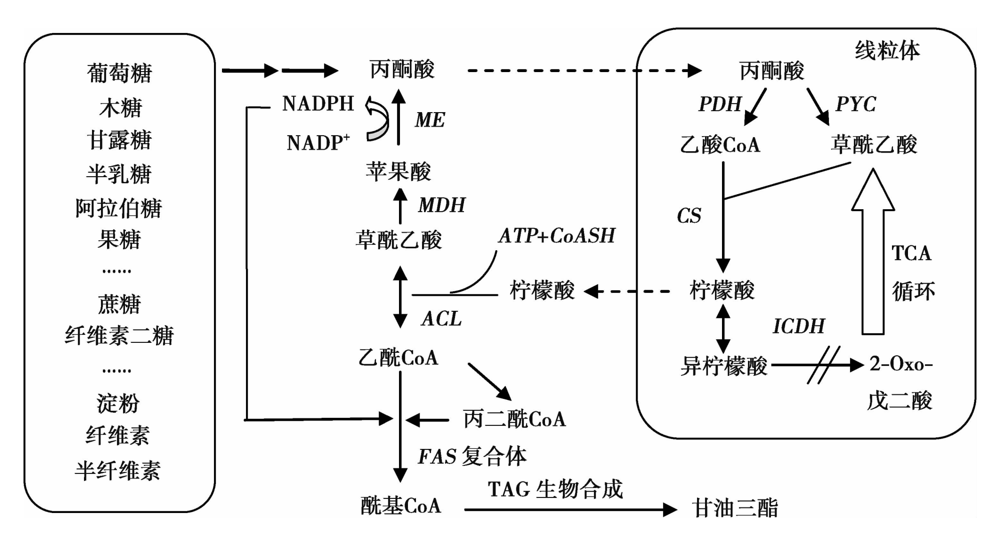


图 1　产油酵母油脂积累代谢调控途径简图[8]

现代生物技术的发展使产油微生物的研究技术在不断趋向成熟，微生物用于油脂工业已成为现实。虽然美国等发达国家以及我国政府和企业已对生物能源产业化技术的发展予以关注，但对微生物高效合成碳氢化合物及微生物油脂制取生物能源产业化过程所涉及的诸多科学问题才刚开始重视，因而目前尚未对此开展系统深入的研究，仍然存在很多问题：

（1）缺乏高产油脂的菌种或藻种（需高通量筛选、诱变育种和分子生物学改造等）；

（2）对微生物产烃或油脂的生物合成和代谢调控机制的认识不够全面；

（3）微生物发酵产油脂的培养技术及工艺不成熟，成本偏高；

（4）能源微藻易放大、低成本培养系统的缺乏及大规模培养和采收技术问题；

（5）微生物油脂的分离提取及制取生物柴油的生产工艺不成熟等；

（6）利用产油微生物开发生物能源生产系统成本的综合优化问题（目前成本过高，竞争力不明显）。

针对利用产油微生物发展生物能源中遇到的问题，目前科学家们的研究领域集中在下面几个方面：对各种产油微生物（主要包括酵母菌、霉菌和藻类）的培养基础研究，将有助于对其油脂过量积累的调控、优良发酵菌株的选育；尤其是对生化机制的研究，包括对其发酵产脂过程中油脂生物合成和积累代谢调控的关键酶特性及其编码基因，如苹果酸酶（*Mae*）基因的克隆、序列分析、表达与调控等研究，进一步开展调控微生物油脂的合成与积累以及与油脂积累相关的转基因研究；深入研究微生物在产油时，碳源、氮源、碳氮比、温度、pH 等因素对其的影响，以有利于改进发酵工艺，进一步降低发酵成本，最大限度发挥菌种产油脂能力；针对能源微藻研制新型高效光生物反应器和开发高密度培养技术；同时研究制取油脂的后续处理过程，例如笔者提出的能源微藻大规模光自养培养带来的采收问题、微生物油脂加工成可直接利用的生物柴油问题及藻体等综合利用开发问题等[9]，建立节能和环境友好型的生产工艺技术，将对微生物油脂作为生物柴油实现产业化提供很好的指导。

因此，微生物产油脂领域具有广阔的研究发展空间，等待着科学家们去不断探索。随着化石资源日益枯竭和世界各国能源供应形势日趋严峻，通过微生物转化和利用基于碳水化合物的可再生资源已成为社会经济可持续发展的迫切要求。应充分利用现代分子生物学、化学生物学和生物化工技术的最新成果，加快对产油微生物菌种筛选、改良、代谢调控和发酵工程的研究，降低获取微生物油脂的成本，可加快微生物产油的研究领域及相关产业的发展进程。

参 考 文 献

［1］ Sawayama S，Minowa T，Yokoyama S. Possibility of renewable energy production and carbon dioxide mitigation by thermo chemical liquefaction of micro algae. Biomass Bioenergy，1999，17（1）：33-39

［2］ Ratledge C，Wynn JP. The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous Microorganisms. Advances in Applied Microbiology，2002，51：1-51

［3］ Certik M. Fermentation physiology and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid biosynthesis. Research in Advanced Bioscience and Bioengineering，2000，（1）：45-64

［4］ Papanikolaou S，Komaitis M，Aggelis G. Single cell oil（SCO）production by *Mortierella isabellina* grown on high-sugar content media. Bioresource Technology，2004，95（3）：

287-291

[5] Miao XL，Wu QY. Bio-oil fuel production from microalgae after heterotrophic growth. Renewable Energy，2004，116 (4)：41-44

[6] Sheehan J，Dunnahay T，Benemann J，et al. A look back at the U. S. Department of Energy's Aquatic Species Program：Biodiesel from Algae. The National Renewable Energy Laboratory of the U. S. Department of Energy，1998：328

[7] Tyson KS，Bozell J，Wallace R，et al. Biomass Oil Analysis：Research Needs and Recommendations. NREL/TP-510-34796，2004

[8] Liu Bo，Sun Yan，Li Yong-hong，et al. Progress on microbial glyceride biosynthesis and metabolic regulation in oleaginous microorganisms. Acta Microbiologica Sinica，2005，45 (1)：153-156

[9] 李元广，谭天伟，黄英明．微藻生物柴油产业化技术中的若干科学问题及其分析．中国基础科学，2009，5：64-70

撰稿人：李元广　范建华

华东理工大学

审稿人：欧阳平凯　陈　坚

未培养微生物资源的认识及开发利用

Exploitation of Uncultured Microbial Resources

微生物支撑着整个地球上的物质循环，同时也是新基因资源库的重要宿主。然而，长期以来微生物的纯培养方法很大程度上限制了我们对微生物家族的全面认识，使得多样性极为丰富的微生物资源难以得到全面的开发和利用。许多未知的微生物类群都是以前从未被培养过的，由于实验室培养条件的限制造成大多数微生物难以用标准的实验室方法培养出来，成为了未培养微生物或者称为不可培养微生物（uncultured microorganism）[1]，特别是特殊和极端环境微生物，其实验室可培养的数量就更少。目前的研究表明海水中可培养性微生物的比率约为 0.001%～0.1 %，在淡水中约为 0.25 %，在土壤中约为 0.3 %，在活性污泥中约为 1%～15 %[2]。因此，许多重要的微生物资源人类还不能基于纯培养的方法获得后再充分加以认识和利用，因此如何开发和利用未培养的环境微生物资源是当前微生物领域的一个极为重要的研究方向。

既然有那么多的微生物类群都无法通过纯培养方法获得，那么如何才能更为全面地了解在某一特定生境条件下微生物群落的多样性呢？自从 20 世纪 70 年代以来，随着分子生物学技术的发展，人们在对微生物多样性认识的深度和广度上取得了空前的进展，陆续发现了大量新的未培养微生物类群，人们对这些微生物类群的认识已经从当初只知其存在逐步发展到对它们的生理特性、代谢功能及其对环境的影响等方面上来了。在 80 年代中期，美国的科研人员基于可培养微生物分子进化和系统发育理论，并结合基于核糖体小亚基 rRNA（small subunit ribosomal RNA，SSU rRNA）编码基因测序的分子生物学技术，首次进行了未培养微生物类群的研究。方法是无需从自然环境中分离获得微生物，而是直接提取环境样品中微生物群落的总 DNA（又称原基因组）信息，并通过 PCR 方法扩增获取微生物群落的 rRNA 基因序列信息，从而进一步深入地揭示未培养微生物类群的进化与系统发育关系，并进而了解未培养微生物类群的结构与功能。目前针对未培养微生物生态学研究的分子生物学技术而言，一般都是以分析核糖体小亚基基因或者管家基因等保守基因编码序列为基础的，例如荧光原位杂交（FISH）技术、变性梯度凝胶电泳(DGGE)，核糖体限制性酶切多态性（ARDRA）及末端限制性酶切多态性(T-RFLP)等技术，此外研究群落生理生化特性的指纹分析技术（如 BIOLOG、PLFA、FAME）等也被大量使用。当前，随着基因组学、转录组学、蛋白质组学及代谢组学等技术的大规模应用，人们已经将这些组学技术初步应用到了微生物生

态学的研究之中，利用这些技术可以高通量地了解特定生境中微生物类群的基因组序列及基因产物，阐明其群落结构、动力学演替及其功能特性。

明白了未培养微生物类群的多样性，就会很自然想到在自然界的未培养微生物类群中应该同样蕴含着大量未知的遗传信息，所以如何绕过纯培养步骤直接从未培养的微生物中获得新的基因资源是当前的另外一个研究热点。从未培养微生物中获得结构更新、功能更强的基因及基因家族，目前概括起来主要有两种方法。其一是利用 PCR 技术，以特定环境样品总 DNA 为模板，通过 PCR 扩增技术获得目的基因[3]。其二是通过元基因组（metagenomic DNA）文库构建和筛选的方法进行研究[1]。这种方法是首先利用原基因组提取技术提取到环境样品中微生物群落的总 DNA，构建出库容量较大的大片段原基因组文库，之后通过筛选原基因组文库来寻找含有目的基因的阳性克隆。这种方法不受已知基因同源性序列的限制，因而所获得的基因往往结构很新颖，有时甚至发现一些新的基因家族成员。目前，人们通过构建各种环境样品的原基因组文库已经筛选得到大量新的基因资源，例如编码果胶酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶、离子转运蛋白、抗生素及污染物降解关键酶等活性物质的编码基因[4]。

当前，随着社会的发展和科学技术的不断进步，人们对未培养微生物的研究也正在不断地深入，其认识和理解程度也正在随之不断地提高，但是目前的研究又存在着很多的局限性和难点：首先，由于很多杂质的存在（如腐殖酸等），特别像高盐碱等极端和废弃污染物等特殊环境中，基因组的提取就变得比较困难，为了达到实验的要求，提取物必须进行纯化，势必造成基因组的大量损失，因而难以获得所有未培养微生物的完整基因组。其次，在大多数情况下，从未培养微生物中得到的是新型未知基因，在已知数据库中很难找到同源基因，这对其功能的研究提出了挑战。另外，元基因组文库的应用还受到许多技术和方法的限制，如元基因组文库的构建和筛选手段等，实际上大量的基因都不能实现异源表达（元基因文库构建通常以 *E. coli* 为宿主菌），完全随机测序的费用又过于昂贵。还有在未培养微生物研究中所用的一些技术，如前面提到的 FISH、DGGE、ARDRA、T-RFLP 等，也都有各自的缺点和局限。由于未培养微生物，特别是近年来成为研究热点的极端环境微生物，无论其物种类群，还是其代谢途径、生理生化反应、产物活性等方面都存在着异常的多样性和新颖性[5-9]，因此如何克服上述局限，更为有效地从未培养微生物类群中发掘出可以造福人类的资源，这对于全体科学技术研究人员而言，既是当前所面临的一个科学热点和难点问题，同时也是我们所肩负的一个重要历史使命。

参 考 文 献

［1］ Newman DK，Banfield JF. Geomicrobiology：how molecular-scale interactions underpin biogeochemical systems. Science，2002，296：1071-1077

[2] Amann RI，Ludwig W，Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol Rev，1995，59：143-169

[3] Piel J. A polyketide synthasepeptide synthetase gene cluster from an uncultured bacterial symbiont of paederus beetles. Proc Nat Acad Sci，2002，99：14002-14007

[4] Streit WR，Daniel R，Jaeger KE. Prospecting for biocatalysts and drugs in the genomes of non-cultured microorganisms. Curr Opin Biotechnol，2004，15：285-290

[5] Venter JC，Remington K，Heidelberg JF，et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. Science，2004，304：66-74

[6] Bond PL，Smriga SP，Banfield JF. Phylogeny of microorganisms populating a thick，subaeria，lithotrophic biofilm at an extreme acidmine drainage site. App Environ Microbio，2000，66：3842-3849

[7] Dela Torre JR，Christianson LM，Beja O，et al. Proteorhodopsin genes are distributed among divergentmarine bacterial taxa. Proc Nat Acad Sci，2003，100：12830-12835

[8] Schmeisser C，Stockigt C，Raasch C，et al. Metagenome survey of biofilms in drinking-water networks. App Environ Microbio，2003，69：7298-7309

[9] Mira A，Ochman H，Moran NA. Deletional bias and theevolution of bacterial genomes. Trends Genet，2001，17：589-596

撰稿人： 周　成　马延和

中国科学院微生物研究所

审稿人： 欧阳平凯　金　城

微生物细胞网络的重构

Reconstruction of Microbial Cellular Network

一只死猫和一只活猫有什么区别？*Nature* 期刊编辑部曾从系统生物学的角度做了一段精辟的论述：死猫是其各种组成成分的一个集合体，活猫则是由整合了这些组成成分的一个系统所涌现出的行为[1]。一个整体确是由各个组成成分构成的，但各个组成成分只有在作为整体的一部分时才有意义，因此即使把各个组成成分高纯度地分离出来，在可控条件下运用高精度的理化仪器和技术弄清其属性和功能，也无法阐明由这些成分构成的整体的属性和功能，因为在一个整体内，各种组分间还会相互作用，“涌现”出组分本身所不具有的新的属性和功能，出现了整体本身所独有的运动规律[2]。在大规模基因组测序技术出现之前的很长时间，生物学的研究只能聚焦于少数基因、酶、蛋白质、生物反应。近年来，高速基因组测序技术把生物学研究带入了一个新的时代，转录组学、蛋白质组学、代谢组学等技术相继发展和成熟，使人们得以从系统的角度对参与生命活动的全部组分进行快速的定性、定量研究。然而，全部组分的加和并不能完全解释系统的行为，不同组分间的相互联系与作用对于系统功能的实现其实更加重要。比如在转录调控过程中，调控蛋白与代谢物等小分子结合并发生构象改变，进而与其他转录因子或 DNA 相互作用调控目的基因的转录；在信号转导过程中信号分子、受体、酶、调节蛋白通过相互作用组成一个级联信号传递途径，最后影响基因的转录；在代谢活动中，代谢物小分子与酶的相互作用非常普遍，通过相互作用改变酶的构象，调节酶的活性（别构效应等）。

细胞中的全部组分通过各种相互作用联系在一起，成为一个复杂的网络系统，常称为细胞网络（cellular network）。注意这里的细胞网络的含义与传统上细胞生物学中所讲的细胞网络不同，后者是指以细胞骨架为基础形成的看得见摸得着的物理存在，常常只涉及几种生物分子，而我们这里更强调的是细胞全部组分的相互作用关系，是无定形的、抽象的、动态的。微生物细胞由于其组分相对较少、复杂程度低、实验材料容易获得，一直是研究生命活动的重要工具。近年来，大肠杆菌、酿酒酵母等重要模式微生物的细胞网络逐步建立起来[3]，对于理解生命活动的基本原理、解决疾病与健康问题打下了较好的基础。在生物技术领域，基于对微生物细胞网络的认识，改造和利用微生物细胞，构建微生物细胞工厂为工业生产服务已经走向议事日程，甚至设计和合成人工生命也在部分实验室取得了重大进展。

像所有对于复杂系统的研究一样，对于微生物细胞网络的认识也是由浅入深、

循序渐进的。首先得到认识的是代谢网络，即所有细胞代谢物小分子通过生化反应相互联系起来形成的网络系统。催化生化反应的酶在生命进化过程中有很大的序列保守性，因而在现代超高速基因组测序技术的支撑下，通过对这些基因组数据的注释和分析，就能够比较准确地确定该物种基因组编码的大多数酶蛋白及其功能、催化的反应，特别是那些在生命进化中比较保守的生化反应，形成了该物种代谢网络的雏形。这一网络可以与实验数据相互印证，阐明微生物生命活动的一些代谢机理问题，并为微生物细胞的代谢途径设计和代谢工程改造提供一定帮助。序列分析的不足之处是难以有效地确定一些新蛋白质的功能和发现新的代谢途径，目前解决的办法还是通过功能基因组的研究，通过基因的克隆、敲除和互补实验等确定基因的功能，因此这种方法建立的代谢网络必须经过反复验证、不断提高预测的可靠性。同时，由于缺乏对于调控关系的认识，这种代谢网络反映的仅仅是物种的潜力，是一种静态网络，不代表任何真实的细胞生理状态。在真实世界中，应该仅有部分酶蛋白被表达出来，仅有部分生化反应活跃，不同代谢产物存在与否以及数量都有巨大差异，代谢网络的一部分会被强化，成为代谢过程的主导，而其他部分被弱化甚至完全消失，而这种此消彼长的演进是随着时间和环境不断变化的。代谢网络是动态的，脱离了时间、环境和空间去谈论代谢网络的意义会导致理解的误区。这就是为什么人们逐渐发现，基于静态网络的一些预测和代谢工程设计难以被实验所证实，难以达到预期的目标（图 1）。

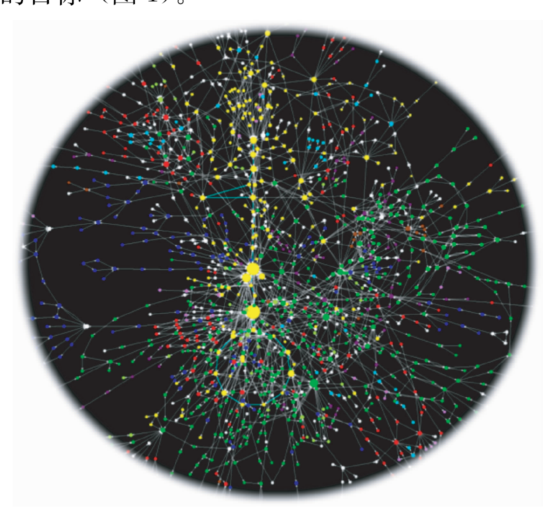


图 1　黑曲霉的代谢网络（局部）

黑曲霉代谢网络涉及 4000 多个编码基因，2443 个反应和 2349 种代谢物[4]。本图侧重展示中央代谢途径（糖酵解和 TCA 循环），每个点代表一种代谢物，点的颜色表示主要参与的代谢活动类型（如黄色表示碳水化合物代谢，绿色表示氨基酸代谢），点的直径与该代谢物参与反应的数量相关

正如本文开篇提到的，要理解和把握系统，必须把系统作为一个整体进行研究。代谢网络作为细胞网络的单一的、基本的层次，虽然在过去的研究中，从重构到模拟仿真都取得了一些进展，但是代谢网络必须置于整个细胞网络之中才有意义。细胞各种组分间的复杂相互作用、相互影响体现了一种调控关系，形成了细胞网络的另一个层次：调控网络。如何重构调控网络？能否像重构代谢网络那样快速又相对可靠地建立一个调控网络呢？

在调控网络中，人们特别注意到了转录调控因子（transcriptional regulator）的重要作用。转录调控因子与 DNA 上特殊序列（binding motif）形成的结构相互作用，影响其他蛋白质和转录因子的活动从而启动或者关闭基因的转录，从源头上控制生命活动，具有显著的生物经济性。转录调控因子与 DNA 结合一般通过螺旋-转角-螺旋（helix-turn-helix）结构实现，因此从序列上比较容易判断一个蛋白质是否有可能是转录调控因子。但是转录调控因子与 DNA 特殊序列和其他转录因子的相互作用取决于其三维结构和表面性质，这方面目前还缺乏有效的计算方法进行预测。对于序列同源性很高的转录调控因子，基于相似性比对确定与其相互作用的转录因子和 DNA 序列，这种方法仅仅局限于进化上亲缘关系密切的生物，即便如此，其可靠性还有待验证。对于新型转录调控因子，还没有办法预测它将与哪些蛋白质因子、哪个 DNA 结合基序（DNA binding motif）相互作用。总地来说，调控关系的发现和研究目前还是以实验科学为主。

转录调控因子的研究方法可以分为间接和直接两类。通过干扰转录因子的表达（如基因敲除），可以实验测定哪些基因的转录受到影响，比如基于芯片杂交或者 mRNA 测序的转录组学、反转录实时 PCR、Northern 印迹等。这些广为使用的实验方法只能提供转录调控的间接证据，因为转录调控中经常存在级联效应，检测到的转录差异可能是间接地由其他转录因子（这些转录因子的表达受被敲除的转录因子的直接影响）的调控引起的。更直接的研究方法包括基于染色体免疫共沉淀（ChIP，chromosomal immunoprecipitation）的芯片杂交（ChIP-on-chip）和 DNA 测序技术（ChIP-seq)，可以直接测定某一个转录调控因子的全部 DNA 结合序列。这种方法的缺陷是需要制备针对这种转录调控因子的抗体，因而费时费力，难以实现高通量。急需一种能够快速测定任意时空条件下全部转录调控因子及其 DNA 结合基序的方法。或许借助于质谱和测序等技术的快速发展，在不远的将来可以实现这一梦想。

蛋白质-蛋白质相互作用也是人们关注的热点，实验方法包括酵母双杂交实验、噬菌体展示技术、等离子共振技术、荧光能量转移技术、抗体与蛋白质阵列技术、免疫共沉淀技术、沉降（pull-down）技术等，主要不足是：①这些方法一般都是针对少数感兴趣的特定目标蛋白；②常涉及表达系统构建、抗体制备等，效率低，难以实现高通量；③发生相互作用的条件往往是离体条件，这种条件下蛋白质间的

相互作用与体内环境的差异容易被质疑。预测蛋白质间相互作用的方法也有一些[5]，但是总体来说预测的可靠性不高，实验验证通常还是必需的。

小分子代谢物与生物大分子间的作用也是调控网络的重要组成部分。代谢物与酶分子间的相互作用（抑制或者激活）非常普遍。许多转录调控（诱导和阻遏）都是小分子与蛋白质因子间相互作用的结果。近年来，在代谢物与核酸开关（riboswitch）的直接相互作用方面发现了越来越多的例子，直接影响 mRNA 转录、转录后加工、蛋白质翻译等过程，影响多种物质代谢过程。在酶与代谢物的相互作用方面，通过过去几十年中酶学和结构生物学的研究逐步积累了较多实验数据。代谢物与其他生物分子的相互作用的研究还刚刚起步，效率很低，我们还无法快速预测或检测一个新的物种中全部代谢产物如何与生物大分子（包括酶）相互作用。

现代组学技术就像一架超级照相机，推动人类对生命的研究进入分子水平、定量水平、全局水平。新兴分析检测与计算技术的协同发展将进一步提升这架照相机的分辨率和速度，解析生物分子间相互作用、此消彼长的细节与动态。由这些组分和相互作用构成的细胞网络模型将逐渐完备，直到那时我们才能够真正地从系统水平上理解生命过程，在遵循自然规律的前提下利用、控制乃至重新设计生命。而要实现这一愿景，现有的计算和分析检测技术必须得到革新和长足的发展，其任重而道远。

参 考 文 献

［1］ Editorial. In pursuit of systems. Nature，2005，435：1

［2］ 赵寿元．系统生物学与还原论刍议．生命科学，2007，19（2）：109-111

［3］ Feist AM，Herrgård MJ，Thiele I，et al. Reconstruction of biochemical networks in microorganisms. Nat Rev Microbiol，2009，7（2）：129-143

［4］ Sun J，Lu X，Rinas U，et al. Metabolic peculiarities of Aspergillus niger disclosed by comparative metabolic genomics. Genome Biol，2007，8（9）：182

［5］ Gomez SM，Choi K，Wu Y. Prediction of protein-protein interaction networks. Curr Protoc Bioinformatics，2008，Chapter 8：Unit 8.2

撰稿人：孙际宾

中国科学院天津工业生物技术研究所

审稿人：欧阳平凯　林章凛

可移动遗传元件在微生物适应和演化中的功能

The Role of Mobile Genetic Elements in Microbial Adaptation and Evolution

微生物（microorganism）是包括细菌、病毒、真菌、古生菌以及一些小型的原生动物等在内的一大类生物群体。微生物在自然界中可谓“无处不在，无处不有”，涵盖了有益有害的众多种类，广泛涉及健康、医药、工农业、环保等诸多领域。与其他生物相比，微生物具有非凡的适应性，几乎能够在所有的生态环境下分离到活性微生物。如高温、低温、高酸、高碱、高盐等极端环境，以及人为造成的高化学污染区、高药物和低营养的环境。当环境发生改变时，原来数量很少和竞争力相当弱的微生物在适合生长发育的新环境下成为优势种，经过筛选，群体中可分离到许多突变体，所以微生物显示了很强的适应性和演化能力。

基因水平转移在生物演化上起着非常重要的作用。它广泛存在于原核生物间并可能直接影响到一部分真核生物。一些可移动遗传元件（mobile genetic element，MEG）的基因片段（如编码抗性基因）能以很高的速率转移到其他生物体中。对于基因水平转移是否在某些生物演化过程中起决定性作用存在着争议。普遍观点是基因水平转移现象的发生极为稀少，可以忽略不计。对基因水平转移的大规模研究得益于测序计划及全基因组序列的获得。通过比较基因组学分析，研究者们惊奇地发现，在微生物物种中（包括古生物界和原核生物界）基因水平转移的频率非常之高，以致于它改变了整个生物系统演化的面貌，如 Logsdon 等通过分析海栖热胞菌（*Thermotoga maritime*）基因组发现，在隶属于原核生物的海栖热胞菌的基因组内，大约有 24%的基因与古生物基因组的基因表现为更加亲密的同源关系，由此推测它们是通过基因水平转移获得的[1]。Lawrence 等通过分析大肠杆菌(*E. coli*)基因组发现，4288 个大肠杆菌基因中有 755 个基因是通过基因水平转移而来的，作者认为这样高的基因水平转移发生频率使得大肠杆菌能够更加适应新的生存环境[2]。随着研究的深入进行，人们甚至发现微生物也可从真核生物获得外源基因，如 Wilderman 对铜绿假单胞菌（*Pseudomonas aeruginosa*）中的磷酸脂酶 D（PLDS)进行遗传学和生化分析指出，编码该酶的基因 *pldA* 是通过基因水平转移从真核生物中获得的[3]。这些研究结果促使大家重新评估基因水平转移在演化中所处的地位。目前，大量的研究表明基因水平转移现象是基因组，特别是原核生物和古生物基因组的重要演化动力[4]。

可移动遗传元件是含有特殊基因的 DNA 片段，这些基因编码的蛋白质和酶

能够调节 DNA 在基因组内和细胞之间转移。细菌可移动遗传元件包括噬菌体、质粒、转座子、插入序列、整合子、基因组岛。原核生物的细胞间的 DNA 转移有以下三种方式：转化、接合和转导，如图 1 所示。转化是首先被发现的原核生物基因水平转移的例子，该过程涉及细胞对环境 DNA（如抗药性质粒以及 DNA 片段）的吸收，且受胞内染色体编码的多个基因的协调控制。细菌天然转化机制

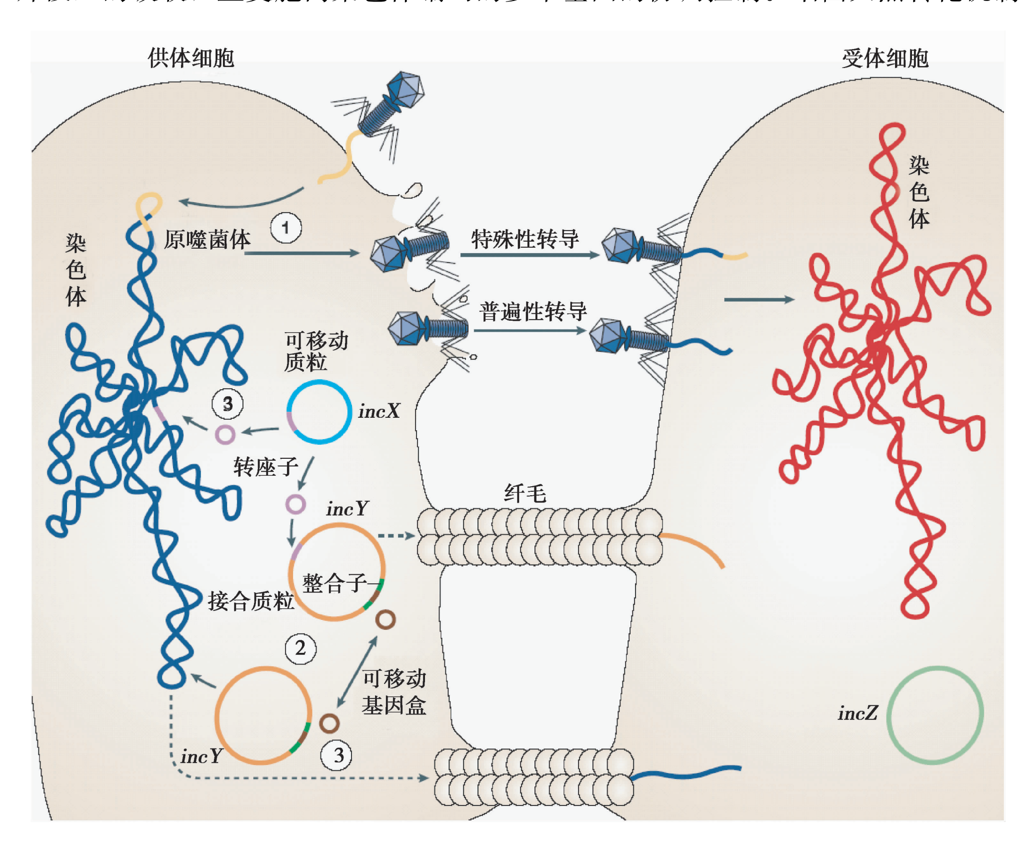


图 1　细菌细胞之间 DNA 的转移[6]

①转导。溶源性噬菌体的基因组 DNA（黄色）插入到细菌染色体（深蓝色）中，形成原噬菌体；当进入裂解期，除了包装自身DNA 外，噬菌体偶尔会只包装宿主的 DNA（普遍性转导）或融合自身 DNA 包装宿主 DNA（特殊性转导）；当裂解后，噬菌体侵染新的受体细胞，供体细胞的 DNA 将被整合进入受体染色体（红色）中。②接合。低拷贝大分子质量的接合质粒或整合型接合元件（integrated conjugative element，ICE）使用一定的特殊结构（如纤毛），建立与受体细胞的联接，并将自身的拷贝转移到受体细胞中；或者将多拷贝小分子质量的质粒的一个拷贝、功能缺陷的基因组岛的拷贝或是整个细菌基因组的拷贝转移到受体细胞中，随后整合到染色体（红色）中；如果能与受体细胞中的质粒（浅绿色）相互兼容，则可能形成独立的复制元件。接合型转座子和革兰氏阳性菌的质粒通常不使用纤毛转移 DNA。③转座。转座子（紫色）能够通过非同源重组方式整合到染色体或质粒中的新的位点上。整合子也通过相似的机制交换可移动的基因盒（褐色）

研究得比较清楚的菌种包括枯草芽胞杆菌（*Bacillus subtilis*）、肺炎链球菌（*Streptococcus pneumoniae*）、淋球菌（*Neisseria gonorrhoeae*）、流感嗜血杆菌（*Haemophilus influenzae*）[5]。接合是由可独立复制元件调节的，如接合性质粒或染色体上的整合和接合性元件（integrated and conjugative element，ICE），在细胞之间转移 DNA。这些元件编码的蛋白质可调控自身 DNA 和一些胞内 DNA 的转移。转导是由可独立复制的细菌病毒（如噬菌体）调节的 DNA 转移方式，它也会以低频率包转并转移宿主的 DNA 到新的宿主细胞中。转座是一种胞内不同复制元件之间或染色体上的 DNA 运动，其有功能的 DNA 片段称为转座子（transposon，Tn）即跳跃基因（jumping gene），是一类在细菌的染色体、质粒或噬菌体之间自行移动的一段特异的 DNA 序列，不能独立复制。

MGE 的活动痕迹在原核生物的基因组序列中可见。结合宿主细胞的同源重组系统，MGE 转座酶和位点专一性重组酶催化了 MGE 的胞内转移。越来越多的研究表明，MGE 在传染性疾病、病原菌抗药性、细菌共生系统和化学污染物生物修复等微生物适应及演化行为中具有重要的功能。通过细菌基因组测序可揭示 MGE 在细菌演化上的功能。在亲缘关系较接近的菌种之间的基因组分歧中，质粒和噬菌体结构占的比重较大，且新型病原菌的出现也有类似结构。在根瘤菌中，与植物细胞建立的共生固氮系统的基因在较大的结合性质粒（＞250kb）上，而其他一些固氮菌的相关基因则在染色体上的“共生基因岛”，其中含有结合性转移的相关蛋白质的基因[6]。首次分离的具有生物转化碳氢化合物等化学物质的天然菌株中，其功能基因是由质粒编码的。随着对污染环境的生物修复过程研究深入，发现这些基因一般由一个较大的操纵子结构编码，也有一些在染色体上的可遗传元件（基因组岛）上。不过，由于 MGE 与细胞染色体之间通过同源重组和非同源重组的方式整合，来自染色体的基因座和来自 MGE 的基因座之间的差异就不容易识别，所以 MGE 在染色体基因迁移中的起源和功能成为了研究的热点。

尽管基因组测序分析表明，基因水平转移对细菌基因组演化的作用比原先认为的要重要许多，但是对可遗传元件序列的分析还比较少。截至 2005 年，所有测序的噬菌体的序列只有 30 Mb，而质粒的序列也只有 61 Mb。许多测序质粒是基因组测序的副产物，而且偏向于病原菌质粒[6]。与 MGE 在微生物环境适应性、临床疾病和细菌演化中的重要功能相比，在基因组时代，MGE 的基因组学研究可认为是被忽视的，处于较低的水平。目前，MGE 的序列注释还存在较多的困难，尤其是染色体上的 MGE。这是由于缺乏有效的针对 MGE 基因预测的生物信息学工具、有限的 MGE 基因组信息以及 MGE 之间缺乏同源性。许多新的基因预测工具，如 Gene-ID、GENMARK、GeneParser、GENSCAN 和 Glimmer2，都是基于大量染色体基因组数据库信息，用于亲缘关系相近的菌株的基因组注释，所以难以有效地

用于 MGE 基因组的注释。MGE 具有典型的镶嵌结构，相互之间只有很少一部分具有功能和序列的相似性，还没有建立噬菌体和质粒统一的标准命名系统，以及专门收集和分析 MGE 基因组的信息平台。另外，还没有一种常用、有效的分离低拷贝的质粒 DNA 用于基因测序的方法，特别是大于 250kb 的质粒，其分离通常需要特殊的分离方法，如氯化铯梯度离心，许多实验室不具备该条件，也阻碍了 MGE 的生物学研究。

几乎每完成一个原核生物基因组的测序就会惊讶地发现一些未知功能和演化路径的基因。而且大部分测序菌株属于实验室菌株，不能反映天然菌株的基因组结构。许多野生型菌株具有独特的生理特征和演化能力，染色体上镶嵌有明显不同的原噬菌体、转座子和基因组岛等可移动遗传元件。MGE 在自然微生物的耐药性、环境修复等适应性表型中起到重要的作用。所有这些都预示着 MGE 作为一种 DNA 转移中介体，在微生物基因组演化中起到非常重要的作用。但是，为阐明 MGE 的这些功能角色，需要深入研究 MGE 的基因组学，建立标准的 MGE 命名系统，开发新型的生物信息学工具和研究平台等。

参 考 文 献

[1] Logsdon JM，Faguy DM. *Thermotoga* heats up lateral gene transfer，Curr Biol，1999，9 (19)：747-751

[2] Lawrence JG，Ochman H. Molecular archaeology of the *Escherichia coli* genome，Proc Natl Acad Sci USA，1998，95 (16)：9413-9417

[3] Wilderman PJ，Vasil AI，Johnson Z，et al. Genetic and biochemical analyses of a eukaryotic-like phospholipase D of *Pseudomonas aeruginosa* suggest horizontal acquisition and a role for persistence in a chronic pulmonary infection model，Mol Microbiol，2001，39 (2)：291-303

[4] Gogarten JP，Townsend JP. Horizontal gene transfer，genome innovation and evolution，Nat Rev Microbiol，2005，3 (9)：679-687

[5] Chen I，Christie PJ，Dubnau D. The ins and outs of DNA transfer in bacteria. Science，2005，310：1456-1460

[6] Frost LS，Leplae R，Summers AO，et al. Mobile genetic elements：the agents of open source evolution，Nat Rev Microbiol，2005，3 (9)：722-732

撰稿人：李　寅　朱林江

中国科学院微生物研究所

审稿人：金　城　王克夷

酶的高通量筛选

High Throughput Screening of Enzymes

酶是来自于大自然的生物催化剂。它能够高效专一地催化化学反应，具有条件温和、环境友好的特征。随着现代生物科技的发展，酶和酶制剂在化学品合成、绿色轻工过程，以及食品饲料等领域发挥着越来越重要的作用。但是现在若干问题限制了酶在工业上的应用，包括酶在工业条件下的低稳定性、低反应速率问题、产物抑制问题等[1]。此外，在现实生活中还存在着很多已知的酶无法催化的化学反应。鉴于以上原因，科学家们一方面在不断发掘具有新活性的酶，另一方面也对现有酶进行分子改造。大自然中的生命进化和新功能的获取需要通过基因突变、基因重组和适者生存等过程来实现。自 20 世纪 90 年代中期以来，科学家们开始在实验室中模仿这一过程对酶进行改造。首先是创造突变文库，然后按照预先设定目标特性，采取选择（selection）或者筛选（screening）的方法，从体外（*in vitro*）或者体内*in vivo*）来挑选出满足特定要求的突变体，这一过程被称为“定向进化”（directed evolution）[1]。大部分情况下，选择方法很难获得，只能采取筛选的方法。酶定向进化成功的关键在于突变文库的多样性和筛选方法的高效性。按照在酶编码基因中引入突变的方式，定向进化可以分为随机突变和半理性设计两种方式。半理性设计是在了解酶空间结构，特别是活性位点和构效关系的基础上，针对特定位点来构建突变文库。而随机突变则不需要了解酶空间结构和构效关系，对其编码基因随机地引入突变，构建包含大量突变的文库，常见的方法包括易错 PCR（error-prone PCR）等。目前在酶的定向进化工作中，合适的高通量筛选（high-throughput screening）方法是一个技术瓶颈[2]。对于微生物和酶的分离鉴定，高通量筛选同样重要。

一般来说，筛选方法应该满足以下几个条件：第一，必须针对目标特性，也就是常说的“所筛即所得”（you get what you select for)；第二，检测方法比较灵敏，能够快速、准确地区分具有不同目标特性的突变体；第三，必须是一种高通量的方式。筛选过程是首先将突变基因转入宿主细胞（host cell)，然后在宿主细胞里面表达酶突变体，接着将酶的目标特性通过某种方式表现为可以快速检测的形式(比如荧光等)，最后是将符合要求的酶突变体分离出来[3]。随着分析仪器设备的不断发展，筛选方法的通量在过去 20 多年中得到了快速的增加。目前，实验室通常的筛选通量已经可以达到约 10^3 个/天，自动化手段的筛选文库大小也可以高达 10^7 个/天，甚至更高。下面具体介绍几种典型的高通量筛选方法。

琼脂平板筛选（agar plate screening）是酶活筛选的一种传统方法。通过向培养基中添加或去除特定成分（如抗生素、生色底物、待降解的有毒物质、必需氨基酸等）或控制培养条件（如高温、酸碱等），使仅表达单个突变基因的转化子表现出生长、颜色、荧光等可被直接观测的特征而被鉴别，具有简便、快速、直观等特点。该方法操作简单，应用相对广泛，能够筛选的文库大小约为 10^5，但是很难区分出不同突变株的催化反应速度[1]。

微孔板筛选（microtiter plate screening）也是一种比较常用的酶活筛选方法，与平板筛选法相比，该方法能够定量表征酶活性的大小，提供酶反应动力学的信息，可以使用多种分析方法，但是其筛选通量较小，每天只能筛选不足 10^4 个突变株。

细胞液滴法（cell-in-droplet）是将单细胞、底物以及产生的产物都包裹在一个油滴中，实质上是形成了比微孔板更小的反应体系，并用流式细胞仪（fluorescence-activated cell sorter，FACS）进行分选。该方法筛选通量非常高，能够筛选的文库大小约为 10^9，但是要求荧光物质不能扩散到油滴外部去。

细胞微反应器法（cell as microreactor）要求底物可以自由进出细胞，但生成的产物（如荧光产物）只能在胞内积累，最后用 FACS 进行分选。该方法能够筛选的文库大小约为 10^9。

细胞表面展示技术（cell surface display）与细胞微反应器法的不同之处在于突变酶、底物以及产物都位于细胞表面上，最后用 FACS 分选展示了目标产物的细胞。该方法特异性高，可筛选的文库大小约为 10^9。

体外区室（*in vitro* compartmentalization，IVC）技术是一种“仿细胞”的无细胞翻译和筛选系统，它采用“油包水”体系，即将水相分散到油相中，形成只能容纳一个基因进行转录、翻译和活性检测的微液滴，最后通过亲和吸附或 FACS 进行分选。该方法不需要克隆操作，筛选通量非常高（$>10^7$ 个/天），能够筛选的文库大小约为 10^{10}。类似的方法还有使用微流体（microfluidics）中的液滴包裹表达酶的细胞进行高通量筛选[3]。

到目前为止，筛选方法已经取得很大的发展，但是常用的依然是琼脂平板筛选法和微孔板筛选，通量较低；细胞液滴法、细胞微反应器法、体外区室法使用的前提是产生的产物或者信号不能扩散到细胞或液滴外部；细胞表面展示技术一般只能用于结合特性（而非酶活）的高通量筛选。如何开发新型的通用高通量筛选技术，改进已有技术，拓展其应用范围和通量，还需要人们不断探索和研究。

参 考 文 献

[1] Leemhuis H，Kelly RM，Dijkhuizen L. Directed Evolution of Enzymes：Library Screening Strategies. IUBMB Life，2009，61：222-228

［2］ Aharoni A，Grlffiths AD，Tawfik DS. High-throughput Screens and Selections of Enzyme-encoding Genes. Curr Opin Chem Biol，2005，9：210-216

［3］ Huebner A，Olguin LF，Bratton D，et al. Development of Quantitative Cell-Based Enzyme Assays in Microdroplets. Anal Chem，2006，80：3890-3896

撰稿人： 林章凛

清华大学

审稿人： 杜昱光　孙际宾

酶的分子改造和化学修饰

Molecular Engineering of Enzymes

酶是指具有催化功能的某些蛋白质。作为来自生物的催化剂，酶具有温和、高效、高特异性和可降解等优点。此外，酶能够接受一系列复杂分子作为底物，高选择性地催化反应的进行，因此能够用于许多复杂的化学合成过程，省去了传统化学催化剂和纯化学方法所必需的基团保护和去保护步骤，并且减少了副产品的生成[1]。目前酶在许多领域有广泛应用[2]。这得益于酶的大规模制备技术、固定化技术、基因工程，以及有机相酶促反应的进展，这些技术进展降低了酶的使用成本，改善了天然酶的性质，极大地扩展了酶的应用范围。

酶的大规模应用有两个主要的限制因素依然存在：大多数酶脱离生理环境后不稳定，限制了酶在工业环境中的应用；分离纯化工艺复杂，酶制剂成本依然较高，因此各种改造手段被尝试用于酶的改造以改善其催化性能。这些手段包括[3]：

1）基因水平的改造。这是20世纪90年代中期逐渐发展起来的技术，主要包括理性蛋白质设计和定向进化，前者通过对天然酶的特定位置进行氨基酸和肽链的删除和替换，获得新的底物特异性和稳定性；后者通过全基因改组（DNA shuffling）或随机突变（random mutation），然后利用选择或高通量筛选方法获得有利突变。

2）化学方法修饰。通过化学基团的引入或去除而使蛋白质共价结构发生改变，都可称为蛋白质的化学修饰。

理性设计是最早应用于蛋白质工程的一种方法。目前它仍是蛋白质分子改造最常用的方法之一。理性设计的一般原理是在阐明相关蛋白质分子高级结构的基础上，明确酶蛋白分子结构与其功能之间的关系，确定酶蛋白分子中相关的需要改造的氨基酸位点，然后结合基因定点突变、盒式突变等技术实现对蛋白质分子性质的改造，甚至可以在某个框架的基础上设计一个人工酶[4,5]。但是，即使对结构已经被清晰解析的蛋白质，理性设计也并不总能保证成功，更多的时候酶改造后的结果与最初的设计大相径庭，原因在于蛋白质中每个氨基酸对于维持正确构象都有一定的意义。这些问题的彻底解决都有待于对蛋白质稳定构象形成过程及其与功能的关系的进一步解析。

与理性设计相对，所谓定向进化指通过PCR方法在体外随机诱变、重组DNA片段，再使之在合适宿主细胞中表达，然后筛选或选择那些能够产生更好的酶蛋白的突变株。一个优秀的定向进化策略通常由有效的体外或体内诱变方法和有效的高

通量筛选方法组成，高效的诱变方法决定了所能得到的基因文库的大小，高效的筛选方法决定了从基因文库获得目的基因的速度和能力。例如，对一个由200个氨基酸组成的蛋白质进行全基因突变，至少需要建立容量为4^{600}的基因文库（而不是20^{200}），要从如此庞大的基因文库中筛选满足条件的目的基因，工作量是不可想象的，因此在实际的定向进化策略中，为了减少筛选的工作量，选择相对更重要的区域进行饱和突变。例如Reetz等提出的组合活性位点饱和突变方法（combinatorial active-site saturation test），在许多酶的定向进化中取得了不错的效果[6]。这实际上是理性设计与定向进化结合使用的一个例子。从中我们可以看到有限的结构信息对于定向进化的重要推动力。但是不容忽视的一点是，在很多时候，我们会发现某些远离活性位点的残基改变导致酶活的巨大改变，而这一改变是我们依靠现有知识无法理解的[7]。

在蛋白质水平上，通过化学基团的引入或去除，而使蛋白质共价结构发生改变，都可以称为化学修饰。广义的化学修饰甚至可以包括前面所提到的理性设计和定向进化。而狭义的化学修饰则是指通过化学试剂修饰肽链侧链基团，从而改变其底物特异性或提供新的酶学特性如稳定性、可溶性等。可以用来修饰酶的基团有很多种，包括蛋白质、肽、小分子物质、高分子聚合物以及荧光标记等。蛋白质侧链上的功能基主要有氨基、羧基、巯基、咪唑基、酚基、吲哚基、胍基、甲硫基等[1,2]。化学修饰的作用主要有三大类：一类是通过外加的功能基团为酶提供新的性质如可溶性、可控缓释、亲疏水性等；一类是通过修饰改变蛋白本身的构型（如糖基化），从而改变其诸如底物特异性、对映体选择性等酶学性质；一类是通过覆盖酶分子表面，稳定酶的分子框架从而提高稳定性。但是，在很多情况下对酶分子侧链残基的修饰常常引起酶活的损失和丧失，不同但类似的修饰物对同一蛋白质的修饰可能获得完全不同的效果。这些问题的根源都在于我们对于蛋白质结构和功能关系的了解依然太少，而且基本上无法定点地对酶的特定残基进行修饰。

酶的分子改造和化学修饰是一个长远而有重要意义的挑战，最终取决于对酶的结构和功能之间内在联系的理解，以及各种酶工程手段的进步。

参 考 文 献

[1] Schmid A，et al. Industrial Biocatalysis Today and Tomorrow. Nature，2001，409：258-268

[2] Kirk O，Borchert TV，Fuglsang CC. Industrial Enzyme Applications. Curr Opin Biotechnol，2002，13：345-351

[3] Bornscheuer UT，Bessler C，Srinivas R，et al. Optimizing Lipases and Related Enzymes for Efficient Application. Trends Biotechno，2002，20：433-437

[4] Park HS，et al. Design and Evolution of New Catalytic Activity with an Existing Protein Scaffold. Science，2006，311：535-538

[5] Seelig B，Szostak JW. Selection and Evolution of Enzymes from a Partially Randomized non-

Catalytic Scaffold. Nature，2007，448：828-833

[6] Reetz MT. Directed Evolution of Enantioselective Enzymes：an Unconventional Approach to Asymmetric Catalysis in Organic Chemistry. J Org Chem，2009，74：5767-5778

[7] Chica RA，Doucet N，Pelletier JN. Semi-rational Approaches to Engineering Enzyme Activity：Combining the Benefits of Directed Evolution and Rational Design. Curr Opin Biotechno，2005，16：378-384

撰稿人：林章凛

清华大学

审稿人：杜昱光　陈　坚

纤维素高效降解酶系与菌种

The Search for Efficient Cellulases

纤维素酶（cellulase）是分解纤维素的一类酶，由许多具有高协同作用的水解酶组成，这些水解酶主要有三种成分：外切型葡聚糖酶（EC3.2.1.91，1，4-β-D-Glucan Cellobiohydrolase，简称 C1 酶）、内切型葡聚糖酶（EC3.2.1.4，Endoglucanase，简称 Cx 酶）和β-葡聚糖苷酶（EC3.2.1.21，β-1，4-Glucosidase，也称纤维二糖酶）。在纤维素水解的过程（图 1）中，首先 C1 酶作用于不溶性纤维表面，破坏纤维素的结晶结构，使纤维素结晶链开裂，长链纤维素分子末端部分游离和暴露；随后 Cx 酶吸附在纤维素分子上面，从键的内部任意位置切开 β-1，4-糖苷键，将纤维素分子断裂为纤维二糖和纤维三糖等，最后这些裂解产物纤维二糖、纤维三糖和其他低分子纤维糊精由 β-葡聚糖苷酶分解为葡萄糖。

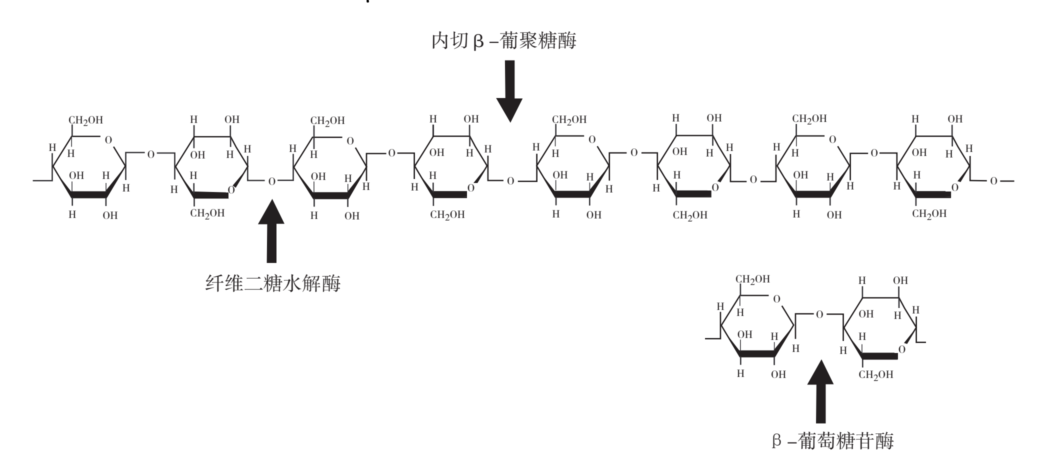


图 1　纤维素的结构以及纤维素酶水解纤维素时的作用位点

纤维素是高等植物细胞壁的主要成分，占植物总干重的 30%～50%，是地球上分布最广、含量最丰富的可再生性碳源化合物，而自然界中大量的秸杆、稻梗等富含纤维素的物质都没有得到有效的利用，这是因为纤维素需要由纤维素酶转化为葡萄糖才能成为可以被直接利用的能源和资源。纤维素酶能够在农牧业、食品工业、发酵工业、医药等众多领域发挥重要作用，因此纤维素酶的研究受到了广泛的关注。

目前，对纤维素利用的工艺流程中由于纤维素酶的催化效率较低，以及实际工

业生产中原料、工艺条件、温度、pH 等条件的限制，使得纤维素酶在纤维素糖化中的成本所占比例较大、因此为了降低单位还原糖的生产成本，需要提高纤维素酶生产的经济性，提高纤维素酶的比活力和利用效率。然而自然界中的菌株纤维素酶生产性能不高，并且纤维素酶由具有高协同性的几种酶组成，由于酶催化反应的底物比较复杂，从不同菌中分离得到的纤维素酶组分差别较大，这给纤维素酶作用机制的研究带来一定的难度，因此人们在不断研究高效的产酶菌种与纤维素酶系。

纤维素酶来源广泛，放线菌、细菌、真菌等都能产生纤维素酶，其中丝状真菌的产酶效率高，所产纤维素酶的酶系结构较为合理且均为胞外酶，便于分离和提取，因而在目前的工业生产中，纤维素酶主要由丝状真菌中产酶活力较强的木霉与曲霉两个属的菌株发酵生产[1,2]。目前对它们进行遗传改良的策略主要包括三种：理化诱变育种、原生体融合育种和构建纤维素酶高效基因工程菌。理化诱变育种简单有效，目前生产上广泛应用的里氏木霉突变株 RutC-30 就是以里氏木霉野生型菌株 T. reesei QM6a 为原始菌株，经过一系列诱变育种得到的。原生体融合育种是通过将包含不同优良特性的原生质体进行融合，筛选具有两属优点的融合子，但得到的融合子的遗传稳定性还有待进一步研究。利用基因工程手段从不同的菌种中克隆大量纤维素酶基因，从中选择那些比活力高、酶特性优良稳定的纤维素酶基因，异源或同源进行高效表达，将是提高纤维素酶生产效率的有效途径。相对于前面两种方法，基因工程途径具有更好的定向性，然而获得的异源表达的纤维素酶常常仅包含纤维素酶复合体的单个或少数组分，这使得该方法在应用上存在一定的局限性。

为了提高纤维素酶系统中各组分的酶活和它们在实际生产中相应的性能和适应性，人们通常应用“理性设计”（rational design）和定向进化技术（directed evolution）对纤维素酶中的组分酶进行改造和修饰[3]。对纤维素酶进行理性设计的前提是要求对所研究酶的结构和功能关系充分了解，从而合理地运用定点突变、结构域交换等手段将特定位置上的氨基酸改变，以期达到改变蛋白质性质的目的。定向进化技术最大的优点在于避开了对酶分子结构及酶和底物相互作用的相关性认知的要求，在基因水平上通过定点突变、易错 PCR、DNA 改组（DNA shuffling）等手段产生多样的基因突变库，进而筛选在特定性能上的优良变种，如耐碱性酶、高比活力酶、高热稳定性的酶等。例如 Ni 等将来自蚯蚓的具有 78.5%～96%同源性的 4 个不同种纤维素内切酶，使用家族改组（family shuffling）技术构建嵌合体基因库并将它们在大肠杆菌中表达，得到的新杂合酶的表达活性比野生型酶提高了 20～30倍[4]。如何从庞大的突变库中筛选优良性能的纤维素酶是定向进化的关键，纤维素酶的筛选方法主要有两种，一种是通过不同的表型特征直接筛选突变株，在检测 Cx 酶活性时经常使用这种筛选方法。具体操作是采用吸附染料的多糖（CMC）对琼脂糖平板进行着色，并通过直观鉴定水解圈的特性判断 Cx 酶的活性

特征；而另一种方法是对突变体进行随机筛选，这种方法通常和 96 孔板甚至是 384 孔板等高通量培养相结合，最后通过高效液相色谱法、质谱分析、毛细管电泳等技术进行检测。

尽管在过去，研究人员对纤维素酶的分子改造取得了一定的进展，但由于纤维素酶系的复杂性和其作用机理的多样性，基于理性设计进行分子改造的研究进展缓慢，并没有发现普遍适用于多种纤维素酶理性设计的方案；定向进化技术仅在基于可溶底物的筛选方法上有一定的成就，但是在实际应用中纤维素酶降解植物细胞壁的关键在于纤维素酶对不可溶底物的水解能力。有效地利用自然界中丰富的纤维素资源对人类的可持续发展有着重要意义。研究纤维素酶的结构与功能的关系有助于改造产纤维素酶菌种和改进纤维素酶系，并最终获得不可溶底物水解效率更高、性能更优良的菌株和纤维素酶系，从而降低酶的生产成本，扩展酶的适用条件和范围，促进纤维素酶制剂的工业规模应用。

参 考 文 献

[1] Cherry JR，Fidantsef AL. Directed Evolution of Industrial Enzymes：an Update. Curr Opin Biotechnol，2003，14：438-443

[2] Kirk O，Borchert TV，Fuglsang CC. Industrial Enzyme Applications. Curr Opin Biotechnol，2002，13：345-351

[3] Zhang YH，Himmel ME，Mielenz JR. Outlook for Cellulase Improvement：Screening and Selection Strategies. Biotechnol Adv，2006，24：452-481

[4] Ni J，Takeliara M，Watanabe H. Heterologous Overexpression of a Mutant Termite Cellulase Gene in *Escherichia coli* by DNA Shuffling of Four Orthologous Parental cDNAs. Biosi Biotechnol Biocham，2005，69：1711-1720

撰稿人： 林章凛

清华大学

审稿人： 杜昱光　孙际宾

微生物跨膜物质运输

——机理与调控

Transmembrane Transport in Microorganisms

细胞膜是一层包围细胞的生物膜，主要由脂质和蛋白质组成。人们通常采用流动镶嵌模型（fluid mosaic model）来描述细胞膜结构：脂质分子亲水基团朝向膜外，疏水基团朝向膜内部，排列成连续的双分子层，构成了细胞膜的基本骨架。蛋白质分子以各种镶嵌方式与双分子层相结合。细胞膜虽然具有一定的刚性，其中的脂质分子和蛋白质分子仍具有流动性（图 1）。

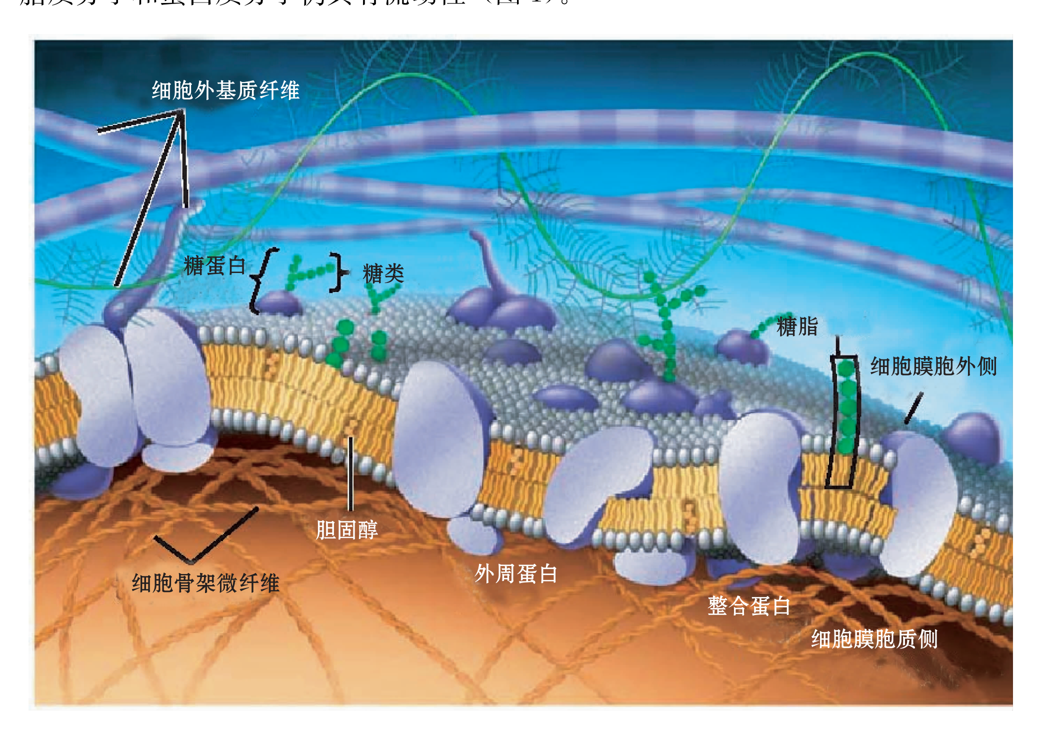


图 1　细胞膜的结构[1]

细胞膜的功能与其结构是分不开的。最基本的性质是细胞膜具有半通透性，不允许细胞内外的亲水分子和离子自由出入。物质通过细胞膜的转运主要有三种途径：被动运输、主动运输、胞吞与胞吐。

被动运输（passive transport）是指通过简单扩散或协助扩散实现物质由高浓

度向低浓度方向的跨膜转运，包括简单扩散与协助扩散两种方式。简单扩散也叫自由扩散（free diffusion），疏水的小分子或小的不带电荷的极性分子进行跨膜转运时，不需要细胞提供能量，也无需转运蛋白的协助。协助扩散也称促进扩散（facilitated diffusion），是各种极性分子和无机离子，如糖、氨基酸、核苷酸及细胞代谢物等，顺其浓度梯度或电化学梯度的跨膜转运，不需要细胞提供能量，但需膜转运蛋白的协助。

由于被动运输不能逆浓度梯度运输，细胞还需要其他运输方式。主动运输是物质由载体蛋白所介导的逆浓度梯度或电化学梯度的跨模转运方式，需要消耗能量。在微生物中，根据主动运输过程所需能量来源的不同，可归纳为由 ATP 直接提供能量（ATP 驱动泵）、间接提供能量（偶联转运蛋白）和光能提供能量三种基本类型。参与主动运输的载体蛋白常被称为泵，这是因为他们能利用能量做功。

ATP 驱动泵又称初级主动运输（primary active transport），由 ATP 酶直接利用水解 ATP 提供能量，实现离子或小分子逆浓度梯度或电化学梯度的跨膜运动，共有四种类型（图 2）：

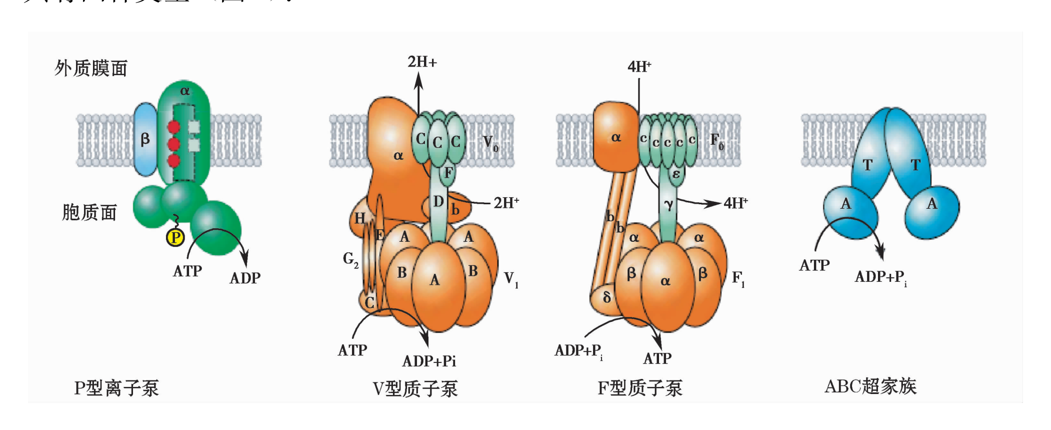


图 2 四种类型的 ATP 驱动泵[2]

P 型离子泵（P-class ion pump）或称 P 型 ATPase。此类泵运输物质时需要磷酸化，包括 Na^{+}-K^{+} 泵和 Ca^{2+} 泵。P 型离子泵都是跨膜蛋白，并且是由一条多肽完成所有与运输有关的功能，包括 ATP 的水解、磷酸化和离子的跨膜运输。P 型离子泵的种类很多，运输不同的离子，且都具有专一性。

V 型泵（V-class 质子 pump）或称 V 型 ATPase，主要位于小泡的膜上，如溶酶体膜中的 H^{+} 泵，运输时需要 ATP 供能，但不需要磷酸化。

F 型泵（F-class 质子 pump）或称 F 型 ATPase。这种泵主要存在于细菌质膜、线粒体膜和叶绿体的膜中，它们在能量转换中起重要作用，是氧化磷酸化或光合磷酸化偶联因子。

ABC 超家族（ABC superfamily）特异性地运输小分子物质。在正常生理条件下，ABC 蛋白是细菌质膜上糖、氨基酸、磷脂和肽的转运蛋白，是哺乳类细胞质膜上磷脂、亲脂性药物、胆固醇和其他小分子的转运蛋白。

协同运输又称偶联运输，它不直接消耗 ATP，物质跨膜运动所需要的直接动力来自膜两侧离子电化学梯度，而维持这种离子电化学梯度则是通过 Na^+ - K^+ 泵（或 H^+ 泵）消耗 ATP 实现的，所以又将离子泵称为初级主动运输（primary active transport），将协同运输称为次级主动运输（secondary active transport）（图 3）。根据物质运输方向与离子顺电化学梯度的转移方向的关系，协同运输又分为同向运输（symport）和逆向运输（antiport）。

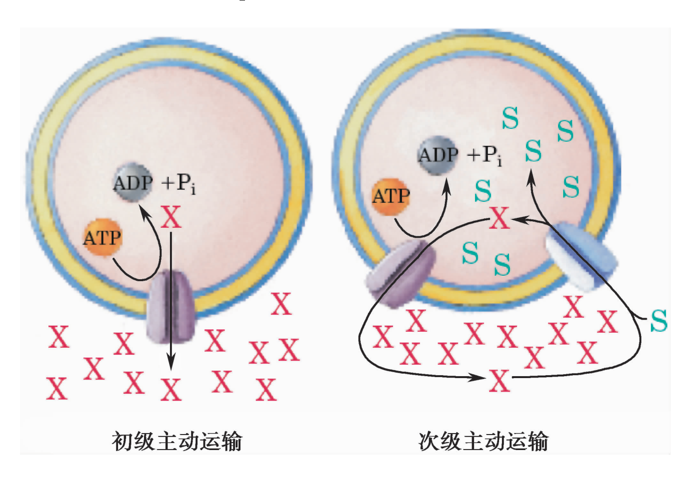


图 3　初级主动运输与次级主动运输[3]

此外，真核细胞还可以通过胞吞与胞吐作用，消耗能量完成大分子与颗粒物质的跨膜运输，如蛋白质、多核苷酸、多糖等。

微生物跨膜运输的机理研究目前已经取得了长足的进展，但是在以下方面还有待进一步阐明。

蛋白质的跨膜转位（protein translocation）就是其中的一个难点和热点。膜蛋白对于细胞的功能是至关重要的，即使在细胞结构最简单的原核生物中，约有 25%～30%的蛋白质会定位在细胞质外的空间，例如在革兰氏阴性菌中，这些蛋白质必须准确定位在内膜表面、周质空间、外膜表面或者细胞外部，那么这些分子质量较大的亲水性肽链如何通过疏水性的膜呢？它们又如何准确定位在不同的位置呢？以上问题对于研究人类、动物和植物的病原体非常重要，因为病原体正是通过以上途径侵染宿主细胞的。目前的研究表明，大部分蛋白质转位是通过共翻译转位（con-translational）或翻译后转位形式完成的。前者是在信号肽介导作用下经由信号肽识别粒子（SRP，signal recognization particle）的识别，再通过由一组保守的

膜蛋白复合体组成的蛋白质通道如 SecY 而完成；后者则依赖于信号肽和蛋白质通道。目前研究者已经成功解析了部分蛋白质转位通道，但很多基础问题仍未解决[4]。

值得关注的是，在医学生物学领域，病原体的广谱抗药性与 MDR（multi-drup resistence pump）蛋白有密切关系。MDR 蛋白的本质是一种可以识别多种药物分子的转运蛋白，它们可以加速药物分子从病原体细胞内向外排出的过程。临床的抗药性主要源自 MDR 蛋白的过量表达，如临床常用的抗真菌药物有氟康唑、酮康唑、伊曲康唑等，真菌对这些药物产生耐药性的一个重要机制是通过 MDR 蛋白降低了细胞内的药物浓度。针对 MDR 蛋白结构和功能的研究是目前菌株抗药性领域的热点，其中两个核心的问题是：种类有限的 MDR 是如何结合并单一方向地排出结构多样的药物分子的？为了降低病原体抗药性，应该如何发现并利用 MDR 抑制物（例如天然底物）？随着生物信息学和膜蛋白结晶技术的发展，人们对以上问题的研究正不断深入，最终目标是发现更多可以抑制病原体抗药性的抗生素[5]。

对膜转运蛋白结构的研究是阐明其作用机理的重要基础，但这也是一个研究的难点，因为其膜蛋白的纯化和结晶是一个很困难的过程，这就需要研究和发展一些新的技术以阐明其结构和功能。如何从生物信息学的角度理解膜蛋白的结构特点和生理功能是目前研究的热点，因为关于蛋白质结构的研究速度远远落后于对其基因序列的研究速度。根据转运模式、能量耦合系统、分子进化过程和底物特异性等因素，研究者目前已经建立起对转运蛋白进行分类分析的数据库系统（http：//www. tcdb. org）。膜转运蛋白数据库的不断发展更新将有助于更多未知结构以及新发现的转运蛋白的作用机理的阐明[6]。

总而言之，微生物的物质跨膜运输研究经过长期的发展，已经取得了很多突破并对生物学、医学等领域的研究提供了重要的理论基础，但它仍留给人们诸多未解之谜并仍将成为研究的重要方向。

参 考 文 献

［1］ Campbell NA，Reece JB. Biology（8th ed）. San Francisco：Benjamin-Cummings Publishing Company，2007

［2］ Lodish H，Berk A，et al. Molecular Cell Biology（6th ed）. Hampshire：W. H. Freeman，2007

［3］ Nelson DL，Cox MM，Lehninger MC. Principles of Biochemistry（8th ed）. Hampshire：W. H. Freeman，2008

［4］ Rapoport TA. Protein Translocation across the Eukaryotic Endoplasmic Reticulum and Bacterial Plasma Membranes. Nature，2007，450：663-669

［5］ Misra R，Bavro VN. Assembly and Transport Mechanism of Tripartite Drug Efflux Sys-

tems. Biochimica et Biophysica Acta，2009，1794：817-825

［6］ Saier MH Jr，Tran V，Barabote，RD. TCDB：The Transporter Classification Database for Membrane Transport Protein Analyses and Information. Nucleic Acids Res，2006，34：181-186

撰稿人：林章凛

清华大学

审稿人：杜昱光　王克夷

生物炼制中五碳糖的高效利用问题

Utilization of C5 Sugars in Biorefinery

以石油为主要原料的化石资源为人类社会的繁荣做出过巨大的贡献，然而这些有限的化石资源前景并不乐观，一二百年的高强度开采与消费使这些不可再生的化石资源渐趋枯竭。据国际能源机构统计，煤、石油、天然气可供人类开采的年限分别只有 240 年、40 年和 50 年。另一方面，无节制地使用化石能源使得数十亿年储存的能量在一二百年左右的时间释放出来，引发了生产方式、经济增长方式、自然和社会环境一系列的问题。大量 CO_2、粉尘、SO_2 等废弃物的排放对环境和生态造成了严重污染和破坏。在这一形势下，以生物质为原料，经过复杂的过程处理，生产出各种产品的生物炼制日益受到广泛关注。植物每年光合作用产生的生物质循环约 950 亿 t 碳，而世界化石燃料的消耗每年为 65 亿 t 碳，远远超出资源需求，因此可再生的生物质是人类能够长久依赖的理想资源和能源。生物炼制的目的就是结合生物技术和工艺，将丰富的生物原料转为有用的产品。生物炼制和石油炼制相比，具有原料可再生以及环境友好这两个重要特点，生物炼制是循环经济，对可持续发展战略的实施有关键作用[1]。

生物炼制的原料是生物质，木质纤维素材料广泛存在于林业及农业废弃物中，是自然界中分布最广、含量最多、价格低廉而又可再生的资源，全球每年由光合作用产生木质纤维素约 4500 亿 t。此外使用木质纤维素作为原料进行生物炼制不占用耕地和粮食资源，因此木制纤维素是生物炼制最理想的原料来源。木质纤维素由三种基本化学成分组成：纤维素，一种葡萄糖聚体，在纤维素酶的作用下降解成葡萄糖；半纤维素，一种五碳糖聚体，其水解产物为木糖、阿拉伯糖等五碳糖以及少量的甘露糖、半乳糖和葡萄糖等六碳糖；木质素，一种苯酚聚体。在木质纤维素水解液中，葡萄糖（六碳糖）的含量最高，紧随其后的是木糖（五碳糖）。木糖在植物纤维原料水解液中的含量为 30%～35%[2]。目前使用木质纤维素作为原料的生物炼制的研究主要集中在木制纤维素燃料乙醇的生产上，虽然现在使用酿酒酵母发酵葡萄糖等六糖生产乙醇的工艺已经成熟，并实现了大规模工业化生产，但是以木糖为主的五碳糖的发酵仍是生物炼制中的一个瓶颈问题，因此在生物炼制，尤其是木制纤维素燃料乙醇的生产中实现木糖这一五碳糖的高效利用具有十分重要的意义。

同葡萄糖相比，木糖较难被微生物同化作用。自然界中存在着某些天然利用木糖的微生物，包括细菌、酵母菌和丝状真菌，真菌与细菌的木糖代谢途径不尽相同（图 1）。酵母及丝状真菌［休哈塔假丝酵母（*Candida shehatae*）、纤维假丝酵母

(*Candida tenuis*)、嗜鞣管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)、树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*)等]的木糖代谢途径首先是在依赖NAD(P)H的木糖还原酶(xylose reducetase, XR)的作用下还原木糖为木糖醇，随后在依赖NAD^+的木糖醇脱氢酶(xylitol dehydrogenase, XDH)作用下氧化形成木酮糖，再经木酮糖激酶磷酸化形成5-磷酸木酮糖，然后进入磷酸戊糖途径(PPP途径)。而大多数细菌(如大肠杆菌等)的木糖代谢途径是通过木糖异构酶(xylose isomerase, XI)直接转化木糖形成木酮糖，随后同样在木酮糖激酶的作用下磷酸化形成5-磷酸木酮糖进入PPP途径，但与PPP途径偶联的是Entner-Doudoroff(ED)途径，通过ED途径产生乙醇[3]。

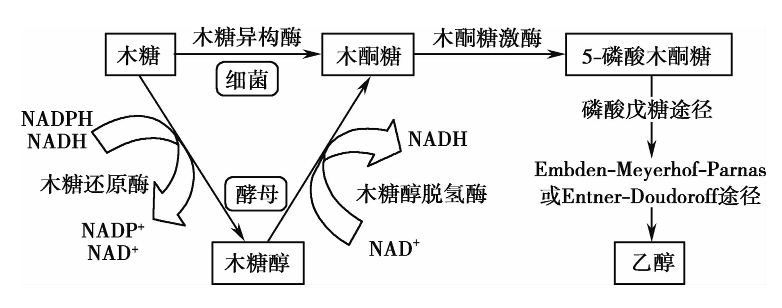


图1　自然界中木糖的代谢途径

然而自然界中那些能够天然利用木糖的微生物却并不能高效地进行木制纤维素乙醇的生物炼制。树干毕赤酵母发酵木糖的能力优于其他酵母，它能在厌氧条件下较快地发酵木糖产生乙醇，但乙醇产率较低，其木糖代谢酶和对木糖的转运受葡萄糖的抑制，而且要求控制精确的供氧浓度，上述缺点都限制了它在乙醇发酵工业中的应用。相对而言，大肠杆菌等野生肠杆菌具有较广的底物利用范围，但是其糖代谢途径和生理机制比较复杂，六碳糖主要经糖酵解途径代谢，五碳糖主要是通过磷酸戊糖途径并与ED途径相偶联进行代谢。大肠杆菌糖代谢的复杂性决定了它的代谢产物的复杂性。其代谢产物包括一些醛类、醇类和有机酸，乙醇并不是其主要的代谢产物，只是其中很小的一部分，因此传统上一般不用它来生产乙醇。

而那些适合生产乙醇的菌株却不能天然地利用木糖。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是工业上生产乙醇的优良菌株，它不仅有很高的乙醇耐受能力，而且对木质纤维素水解液中的抑制因子有一定的耐受能力，但是酿酒酵母不能发酵木糖。运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)在厌氧条件下主要通过Entner-Doudoroff途径代谢葡萄糖，它可以发酵葡萄糖、果糖、蔗糖等六碳糖生产乙醇，但不能利用五碳糖生产乙醇。由于运动发酵单胞菌是目前发现的唯一一种通过Entner-Doudoroff途径厌氧发酵葡萄糖的微生物，因此其十分适合乙醇的生产。

由于自然界中的微生物存在着利用木糖和乙醇发酵生产之间的矛盾，因此需要通过基因工程和代谢工程技术获得新的菌种来提高木质纤维素乙醇发酵能力。研究木

质纤维素乙醇转化的宿主菌株主要集中在大肠杆菌、运动发酵单胞菌和酿酒酵母等。

对大肠杆菌进行基因改造的目标在于使之能够适应纤维素水解液，并控制其细胞内的碳代谢向生成乙醇的方向进行。大肠杆菌染色体上具有代谢木糖的所有基因，但其缺乏丙酮酸脱羧酶（PDC），而且乙醇脱氢酶Ⅱ（ADHⅡ）的水平也较低。有研究者将运动发酵单胞菌中的高活力丙酮酸脱羧酶基因（*pdc*）和乙醇脱氢酶基因（*adhB*）整合至大肠杆菌基因组中，同时将琥珀酸合成途径中的延胡索酸合成酶基因（*frd*）打断，阻断了琥珀酸的合成途径，最后得到的菌株转化葡萄糖和木糖生成乙醇的产量分别达到了理论值的103%～106%[4]。目前这一方向的研究重点在于寻求廉价的培养基配方以及提高菌株抵抗木质纤维素水解液中抑制因子的能力。

对运动发酵单胞菌的改造重点则在于扩大其底物利用范围，使之可以代谢木糖。运动发酵单胞菌属于厌氧型革兰氏阴性细菌，它可以在厌氧条件下将丙酮酸脱羧酶和乙醇脱氢酶相偶联，是目前乙醇发酵能力最强的细菌之一，并且具有发酵速度快、耐受高乙醇和高底物浓度、糖利用率和乙醇产率高、产物专一性高、生产营养要求简单等优点，同时发酵菌体生物质简单处理后可作为动物饲料或肥料使用。但运动发酵单胞菌由于自身缺少必要的代谢途径而不能利用木糖。研究者将大肠杆菌中与木糖代谢相关的木糖异构酶基因（*xylA*）、木酮糖激酶基因（*xylB*）、转酮醇酶基因（*tktA*）和转醛醇酶基因（*talB*）重组到运动发酵单胞菌中，获得的重组菌株可以在以木糖为唯一碳源的培养基上生长，且乙醇产量达到了理论量的86%[5]。

对酿酒酵母的改造同样也集中在扩大其底物利用范围，使之可以代谢木糖。酿酒酵母是工业大规模发酵生产酒精的传统菌株，具有生长速率快、酒精耐受性好、发酵过程副产物少、酒精得率高、公认安全性、发酵菌体残渣可用于饲料、发酵过程不易被细菌和病毒污染等优良特性，但其由于缺乏木糖代谢中最初将木糖转化为木酮糖的酶而不能利用木糖。有两种策略可以在酿酒酵母中引入转化木糖生成木酮糖的代谢途径，分别是克隆并表达木糖还原酶基因 *xyl1* 和木糖醇脱氢酶基因 *xyl2*（XR-XDH 途径）和克隆并表达细菌的木糖异构酶基因 *xylA*（XI-途径）。在第一种策略中，研究者将树干毕赤酵母（*P. stipitis*）的木糖还原酶基因与木糖醇脱氢酶基因在酿酒酵母中表达，使得在有氧条件下酿酒酵母可以利用木糖并产生木糖醇[6]。进一步研究发现，木糖还原酶基因与木糖醇脱氢酶基因相对表达水平的高低会影响最终代谢产物的形成，目前许多研究者希望通过代谢途径的改造来减少副产物的积累，提高乙醇的转化效率。在第二种策略中，木糖异构酶被认为是木糖转化乙醇最高效的途径，因为它可以有效地解决 XR-XDH 途径中木糖醇的积累问题且在表达过程中无需辅酶因子的参与。但由于细菌和酵母在胞内最适 pH、蛋白折叠和后期翻译模式上存在差异，因此此种异源表达遇到了困难。经过摸索，来自极端嗜热菌（*Thermus thermophilus*）、严格厌氧真菌（*Piromyces* sp. E2）、

天蓝色链霉菌（*Streptomyces coelicolor*）中的木糖异构酶基因在酿酒酵母中成功地得到了表达，目前的研究集中在对这些异源的木糖异构酶进行改造以提高其活性[3]。

目前大多数微生物利用木糖发酵的效率都不高，其原因在于木糖发酵重组菌株中木糖的代谢通路对木糖的利用率不高，以及当木质纤维素水解液中的葡萄糖组分存在时，木糖的跨膜转运及代谢受到抑制。

前文已经提到，在木糖发酵重组菌株中异源表达的酶系由于不同菌种间胞内 pH、最适生长温度和翻译修饰折叠机制的差异，其活力会降低，从而导致对木糖利用效率的降低。而不同酶之间辅酶的差异也会导致木糖代谢通路的不畅通。例如，树干毕赤酵母（*P. stipitis*）来源的木糖还原酶以 $NADPH/NADP^+$ 作为辅酶，而木糖醇脱氢酶则以 $NADH/NAD^+$ 作为辅酶，这种辅酶利用上的不平衡会造成整体通路效率的低下和中间产物的堆积，从而降低了木糖发酵的效率。

微生物能够从大量的碳源中选择并吸收一种能使它生长最快的碳源，这个机制被称为碳代谢物抑制效应（carbon catabolite repression），这也是当木质纤维素水解液中的葡萄糖组分存在时，木糖转运和代谢受到抑制的原因。如图 2 所示，以大

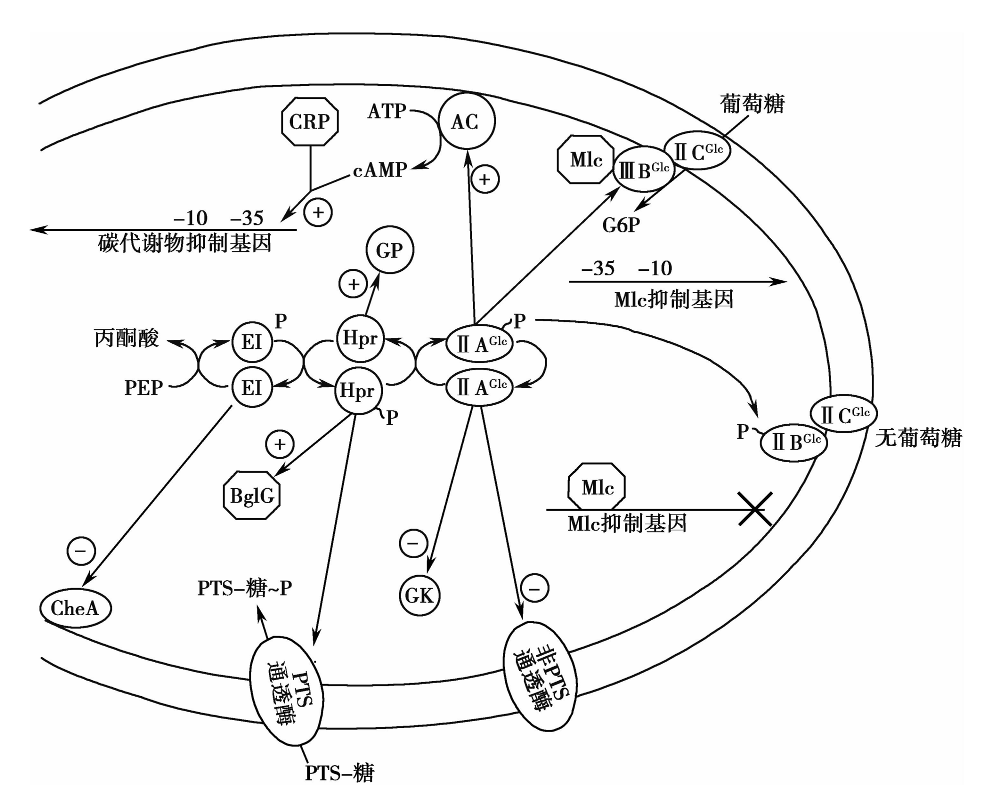


图 2　大肠杆菌中的碳代谢物抑制机制[7]

肠杆菌为例，当葡萄糖存在的时候，IIA^{Glc}蛋白被去磷酸化，然后结合到了包括木糖转运蛋白在内的非葡萄糖转运蛋白上，从而抑制了木糖的转运。这样，大肠杆菌在有葡萄糖存在的混合培养基中，只能大量转运葡萄糖，而不转运其他糖类。

如果能够除去碳代谢物抑制效应机制的影响，使得大肠杆菌能够同时而不是分先后地利用培养基中的各种碳源，从而消除二次生长，那么就可以提高以木制纤维素水解液为原料的乙醇发酵效率，从而实现生物炼制中五碳糖的高效利用。通过基因敲除和定向进化的方法来改造碳代谢物抑制效应网络，这也是提高五碳糖利用效率的一个研究热点。

参 考 文 献

［1］ Kamm B，Kamm M. Biorefineries-Multi Product Processes. Adv Biochem Eng/Biotech，2007，105：175-204

［2］ Jeffries TW. Genome Sequence of the Lignocellulose-bioconverting and Xylose-fermenting Yeast *Pichia stipitis*. Nature Biotech，2007，25：319-326

［3］ Maris AJ. Development of Efficient Xylose Fermentation in *Saccharomyces cerevisiae*：Xylose Isomerase as a Key Component. Adv Biochem Eng/Biotech，2007，108：179-204

［4］ KOhta K，Beall DS，Mejia JP，et al. Genetic Improvement of *Escherichia coli* for Ethanol Production：Chromosomal Integration of *Zymomonas mobilis* Genes Encoding Pyruvate Decarboxylase and Alcohol Dehydrogenase II. Appl Environ Microbiol，1991，57：893-900

［5］ Zhang M，Eddy C，Deanda K，et al，Metabolic Engineering of a Pentose Metabolism Pathway in Ethanologenic *Zymomonas mobilis*. Science，1995，267：240-243

［6］ Kötter P，Ciriacy M. Xylose Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Appl Microbiol Biotechnol，1993，38：776-783

［7］ Gosset G. Improvement of *Escherichia coli* Production Strains by Modification of the Phosphoenolpyruvate：Sugar Phosphotransferase System. Microbial Cell Factories，2005，4：14-25

撰稿人：林章凛

清华大学

审稿人：欧阳平凯　杜昱光

细菌之间有交流吗（群体效应）?

The Communication between Bacterial Cells：Quorum Sensing

高等动物可以通过声音语言或动作语言进行交流，一些低等动物也可以通过外激素等化学物质进行交流，那么，单细胞的细菌之间是否也有交流呢？这是一个值得探究的问题。细菌间的交流现象最早于 1977 年发现于海洋发光细菌费氏弧菌（*Vibrio fischeri*）中[1]，该细菌与很多海洋生物共生，并为这些海洋生物提供捕食、求偶和躲避天敌所需的荧光，而这种荧光只有当该细菌的细胞达到一定浓度时才能产生，也就是由细胞间的交流控制的。20 世纪 80 年代，通过几个小组的研究，揭示了该细菌细胞间交流的关键蛋白、信号分子和交流系统（LuxI/LuxR 系统）。在之后很长一段时间内，该系统被认为是一种孤立的、为特定目的而存在的系统。但后来的研究表明，细菌间的交流系统广泛存在于各种细菌当中，大部分细菌都有一套或几套交流系统[2]。根据信号分子的种类和作用方式的特点，可以对这些系统进行分类。

目前已经很清楚，对大部分细菌而言，细胞之间是能够通过化学信号进行交流的。单个的细菌细胞能够通过特定的途径合成特定的信号分子并将其释放到细胞外，同时能够感知周围环境当中一定浓度的信号分子，并对其作出反应。这些信号分子通常称为自诱导物（autoinducer）。通过这种方式，细菌能够感知环境中自己同类的菌体密度高低，并在一定的菌体密度下诱导相应的基因表达，并表现出群体性质的整体变化。由于在一定的菌体密度下，系统中的所有细菌同时感应信号分子并作出反应，所以这种现象通常被称之为“群体效应”（quorum sensing，QS）。

图 1 展示了一个典型的细菌群体效应系统（Lux 系统）的作用原理[2]。细菌体内的蛋白质 LuxI 能够合成作为细胞间交流信号分子的自诱导物酰基高丝氨酸内酯（homoserine lactones，HSL）。该自诱导物可以自由地进出细胞，因此当菌体密度升高时，环境中自诱导物的浓度也随之升高。该自诱导物与受体蛋白 LuxR 的复合体结合，进而特异性地结合受群体效应控制的基因启动子区的 DNA 序列，使得在这些启动子下游的基因表达，因此高菌体密度时，对应的高自诱导物浓度将使目的蛋白得以大量表达，这就形成了一个将特定蛋白表达与菌体密度关联起来的系统。该系统存在于多种革兰氏阴性菌当中，对于不同种类的细菌而言，使用的自诱导物酰基高丝氨酸内酯的酰基有所差异。

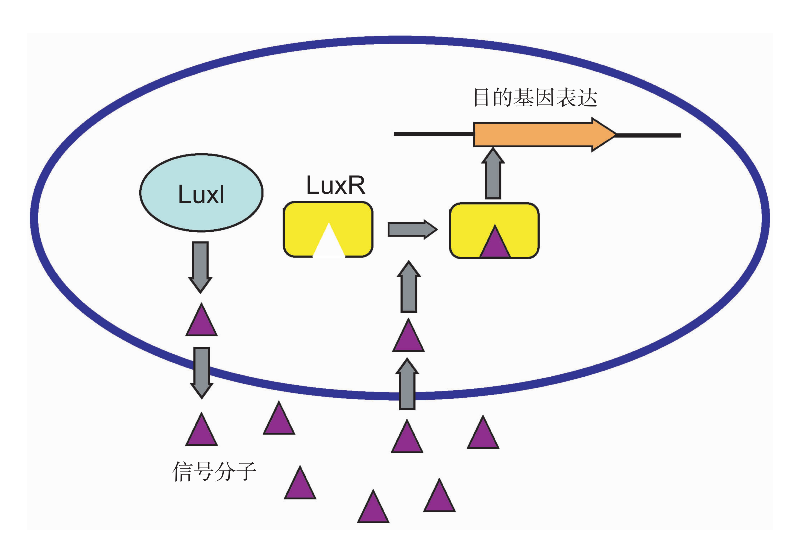


图 1　典型的细菌群体效应系统

很多革兰氏阳性菌则是以寡肽为信号分子来完成细胞间交流的，其群体效应系统如图 2 所示。作为自诱导物的寡肽的前体基因经过胞内表达、修饰后通过特定的转运蛋白转运到胞外环境中，其浓度随菌体密度的升高而提高。在菌体密度较高时，细菌细胞膜上特定的感受器感受到寡肽分子的存在后，将磷酸基团转移给相关的调控蛋白，调控蛋白作用于目的基因表达的调控区域，启动目的基因的表达。

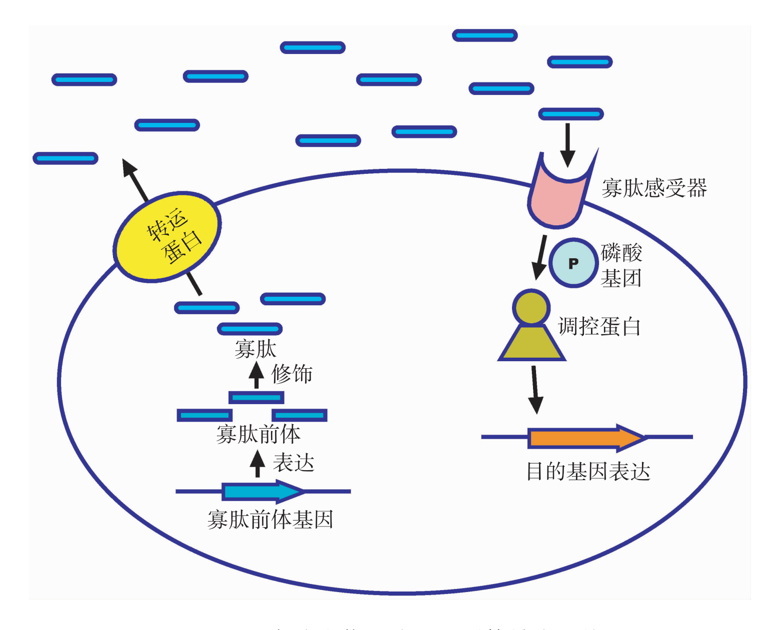


图 2　以寡肽为信号分子的群体效应系统

细菌世界中大多数的群体效应现象都是种特异性或属特异性的，这可以避免环境中别的种类的细菌信号分子的干扰。尽管如此，也有部分群体效应发生在不同种或不同属的细菌之间。部分种类的细菌有时会通过合成可以分解其他细菌自诱导物的酶，或者分泌其他细菌自诱导物的类似物，来干扰其他细菌的群体效应，以在生存竞争中获得优势。类似物干扰的方法现在也引起了研究者的重视，希望根据此原理开发出新的对抗致病微生物的治疗方法。

很多细菌行为都是由群体效应调控的，其中包括共生现象、致病性、毒性、抗菌素的合成和生物膜的形成等，对细菌群体效应、医学、工业生物技术和基础生物学研究都具有重要意义。关于基于群体效应的医学研究，目前的热点和亟待解决的问题主要集中于两个方面：一是开发结构上与自诱导物分子相近的物质，并从中得到干扰致病菌群体效应的药物；二是以合成自诱导物的酶或者自诱导物的受体为靶点，开发对抗致病菌的药物。对于基于群体效应的工业生物技术研究，则主要着眼于利用有益的工业菌的群体效应，提高工业菌发酵过程中的菌体密度或生产产品的产量。在基础生物学研究方面，则希望通过研究群体效应，使人类对细菌细胞内和细胞间信号转导，种内和种间的交流有更加清楚的认识，也为研究多细胞生物的起源和进化提供启示和参考。通过蛋白质工程的各种手段对细菌群体效应系统中各种元件进行的改造研究则为合成生物学的研究提供了更为丰富的元件，帮助人们开发出更为复杂和高级的人工生物系统[3]。

对细菌群体效应进行应用的前提是对各种细菌群体效应系统有一个全面而深入的了解，目前我们所知道的细菌间交流系统还是十分有限的，更多的系统还有待发现和应用。另外，在复杂环境中各种因素（如细菌寄生或共生的其他生物的代谢产物及可以使自诱导物发生变化的酶类、自诱导物扩散障碍、pH、温度、介质和菌体的空间分布等）对细菌群体效应影响的研究也有可能为上述的各种应用提供解决方案[4]。

参 考 文 献

［1］ Fuqua C，Greenberg EP. Listening in on Bacteria：Acyl-homoserine Lactone Signalling. Nature Rev Mol Cell Biol，2002，3：685-695

［2］ Schauder S，Bassler BL. The Languages of Bacteria. Genes & Dev，2001，15：1468-1480

［3］ Brenner K，You LC，Arnold FH. Engineering Microbial Consortia：A New Frontier in Synthetic Biology. Trends Biotechnol，2008，26：483-489

［4］ Boyer M，Wisniewski-Dye F. Cell-cell Signaling in Bacteria：not Simply a Matter of Quorum. Fems Microbiol Eco，2009，70：1-19

撰稿人： 林章凛

清华大学

审稿人： 杜昱光　金　城

低温产甲烷菌为何耐寒？

Why Cold Adaptive Methanogens Tolarent Low Temperature?

1960 年，苏联在西伯利亚发现了第一个可燃冰气藏，对于石油资源日益匮乏的地球，可燃冰的发现令人非常振奋。调查发现可燃冰广泛存在于海底 300～500m 的沉积物及西伯利亚的永久冻土层中，其主要成分是甲烷和水，化学式是 $CH_4 \cdot 8H_2O$。可燃冰的形成过程与海底石油、天然气相仿且密切相关，即埋藏于海底地层深处的大量有机物在缺氧环境中被厌氧微生物分解，最后形成石油和天然气；其中由于大部分天然气又被包进水分子中，在海底的低温与压力作用下而形成固态的“可燃冰”。据最保守的统计，全世界海底可燃冰中贮存的甲烷总量约为 1.8 亿亿立方米（$1.8\times10^{16}m^3$），是已知的全球传统化石能源（煤、石油、天然气、油页岩等）储量的两倍以上，它的储量足够人类做为能源使用 1000 年。

甲烷菌是唯一可产生甲烷的一类微生物，目前人类发现和培养的甲烷菌多来自于中温（25～45℃）或高温（55～100℃）环境。而在形成可燃冰的低温环境中（海底、永久冻土层）必然生活着低温的甲烷菌，但迄今成功分离的低温甲烷菌只有 9 株，它们的原始生活环境均处于低温，如南极湖水、高寒湿地及永久冻土（图 1）[1]。



图 1　分离到第一株低温甲烷菌的南极 Ace 湖，年平均气温 1～2℃，水下 20m 富含甲烷（Ricardo Cavicchioli，2006）

低温甲烷菌是指能在低于 20℃的温度下生长的甲烷菌，包括耐冷甲烷菌（最适生长温度在 20℃以上，但在冰点时仍生长）和嗜冷甲烷菌（最适生长温度在 20℃以下）。已知低温条件下细胞内外形成的冰晶对细胞膜有很大的伤害，可引起细胞膜破裂和通透性的改变，最终导致细胞死亡。同时，低温条件下，细胞内的生

化反应速率降低，DNA 复制、mRNA 及蛋白质的合成都受到影响；细胞膜的流动性降低，导致细胞从外界吸收营养物质的效率下降。上述诸多因素都使细胞的生长受到抑制。那么甲烷菌是如何适应海底及冻土地带的低温环境呢?

自 20 世纪 90 年代发现低温甲烷菌以来，人们就开始探讨低温甲烷菌的特性。研究发现它们的细胞膜中不饱和脂肪酸的比例增加。2004 年，David S Nichols 通过液相色谱-电喷雾质谱联用技术，对生长于 4℃和 23℃条件下的分离自南极的一株甲烷菌布氏拟甲烷球菌（*Methanococcoides burtonii*）细胞膜中的脂类成分做了分析。他发现 4℃培养的甲烷菌，细胞膜中的不饱和脂类成分显著增加。古菌细胞膜上的脂类是由醇类物质通过醚键与长链脂肪酸结合在一起形成的（图 2)。通过增加长链脂肪酸的不饱和度，降低细胞膜的冰点，增加了细胞膜的流动性，使得细胞膜上的离子通道、酶等结构保持其正确构象，从而正常行使功能[2]。

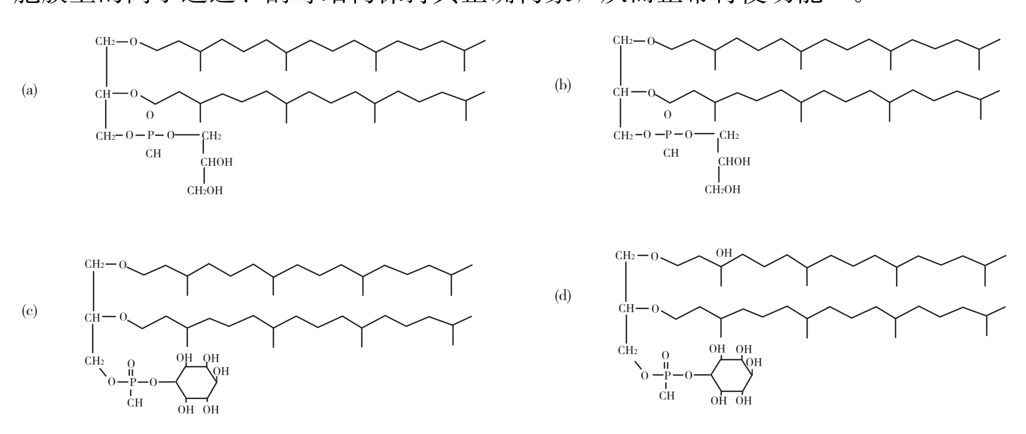


图 2　古菌的脂类

（a）甘油磷脂；（b）羟基甘油磷脂；（c）肌醇磷脂；（d）羟基肌醇磷脂

大肠杆菌（*E. coli*）的 RNA 解旋酶基因 *csdA* 在低温条件下才表达，实验证明 RNA 解旋酶可引起双链 RNA 解旋，推测可能是因为低温条件下，RNA 趋向形成较为稳定的部分双链结构，但是却使得蛋白质翻译过程难以进行。而 Jones 在 1996 年证明，RNA 解旋酶的解旋作用可解开 RNA 形成的局部双链结构，利于翻译过程正常进行，并证明低温（15℃ ）时，*E. coli* 中的 CsdA 是主要的核糖体结合蛋白，表明该推测有一定的合理性。Julianne Lim 等研究发现，4℃条件下，*M. burtonii* 中的与 *E. coli* 的 *csdA* 同源的 *dead* 基因大量表达，而在 23℃条件下却不表达。表明甲烷菌中也可能存在着与细菌相似的受低温诱导表达的基因[3]。

另外，研究发现低温下微生物的 tRNA 中二氢尿嘧啶的含量大大增加。已知 GC 含量对 tRNA 的结构有重要影响，即 GC 含量越高，结构越稳定，反之结构不稳定。嗜热甲烷菌通过提高 tRNA 中的 GC 含量而达到稳定其空间构型的目的。那

么低温甲烷菌会不会降低 tRNA 的 GC 含量以增加 tRNA 结构的可变性以提高其转运效率？事实并非如此，分析证明低温甲烷菌 *M. burtonii* tRNA 的 GC 含量与中温、嗜热甲烷菌的 GC 含量相比并无多大差别，表明低温甲烷菌必定有其他策略来提高其结构的可变性。Noon 等研究发现，*M. burtonii* 的 tRNA 二氢尿嘧啶的修饰远远高于其他中温或嗜热甲烷菌，这可能是低温甲烷菌的冷适应机制之一[4]。

上述几点只是低温甲烷菌冷适应机制的冰山一角，要真正解开低温甲烷菌为何能在低温下生活还需要更深入的研究。蛋白质是生命功能完成最主要的执行者，Goodchild 等通过蛋白质双向电泳和质谱技术发现，*M. burtonii* 在 4℃和 23℃时有 43 个蛋白质差异表达，包括甲烷合成途径、生物合成及信号感受的蛋白质[5]，但迄今在这些关键问题方面的研究还比较少，诸如已知甲烷菌的生长温度范围是－2～110℃，甲烷合成途径中的一些关键酶是如何适应如此大的温度范围变化的，以及甲烷菌的冷适应机制是否和细菌相似，都还是未解之谜。

了解低温甲烷菌耐冷的分子机制，不仅拓展了人类对古菌这类特殊生命形式的嗜冷机制的认识，而且可能对目前冬季沼气发酵效率低的问题提供技术指导。

参 考 文 献

[1] Cavicchioli R. Cold adapted archaea. Nature Rev Microbiol，2006，4：331-343

[2] Nichols DS，Miller MR，Davies NW，et al. Cold adaptation in the Antarctic archaeon *Methanococcoides burtonii* involves membrane lipid unsaturation. J Bacteriol，2004，186：8508-8515

[3] Lim J，Thomas T，Cavicchioli R. Low temperature regulated DEAD-box RNA helicase from the Antarctic archaea. J Mol Biol，2000，297：553-567

[4] Noon KR，Guymon R，Crain PF，et al. Influence of temperature on tRNA modification in archaea：*Methanococcoides burtonii*（optimum growth temperature [T_{opt}]，23℃）and *Stetteria hydrogenophila*（Topt，95℃）. J Bacteriol，2003，185：5483-5490

[5] Goodchild A，Saunders NF，Ertan H，et al. A proteomic determination of cold adaptation in the Antarctic archaeon，*Methanococcoides burtonii*. Mol Microbiol，2004，53：309-321

撰稿人：陈紫鹃　东秀珠

中国科学院微生物研究所

审稿人：曹竹安　金　城

抗逆微生物的开发

Exploitation of Stress-tolerant Microorganisms

抗逆微生物指那些在普通生物无法生存的极端环境中活跃代谢的微生物，包括耐高低温，耐高盐、碱或酸及耐辐射等不利环境的类群，因此叫做极端微生物。极端微生物可能是地球早期出现的原始生命体，其他生命形式可能由它们进化产生，因此极端微生物富含各类原始的生命信息，不仅包括多样性的遗传基因，同时具有各种代谢功能以及未分化的“原始功能蛋白”。地球环境经历亿万年的变迁，导致地球生命形式产生巨大变化，许多大型动植物由于不能适应环境变化而消亡，而这些抗逆微生物由于其高度的适应极端环境的能力而生存下来。与普通微生物相比，抗逆微生物还具有一些特殊的代谢途径，使得它们在逆境中能够获得代谢能量和生活所需的“食物”，并产生一系列可提高细胞对逆境的抵抗能力的产物。另外，抗逆微生物可能也是微生物长期为适应各种环境变迁进化而来。与动植物相比，微生物具有更强的变异能力，因而能够产生丰富的生物多样性，因此微生物的抗逆性由多基因以及多种代谢途径及产物决定，如改变细胞膜脂肪酸结构及组成，产生大量保护性多糖或寡糖物质如海藻糖等；应急产生多种分子伴侣保护胞内蛋白质结构；许多嗜高温微生物合成的蛋白质在高级结构上表现出更强的离子对作用、疏水作用，使其结构更加稳定。个别基因由于其最终产物具有较好的抗逆性如海藻糖、分子伴侣等，因此抗逆微生物为生物技术的发展提供了丰富的基因资源、特殊的代谢功能以及思路和策略，如通过转基因技术可将抗逆基因导入其他生产用的微生物，以提高其抗逆性。但抗逆性有时不是由单个基因所决定，而是多个代谢途径，以及包括细胞结构等多层面共同作用的结果。当然随着生物技术的迅速发展，通过多个基因簇转化技术，有可能制造出新的抗逆微生物或提高普通微生物的抗逆性能。

抗逆微生物是一类特殊的微生物资源，它们能够为人类解决环境、能源和人口健康问题提供重要帮助，尤其是许多生物产业中，这些抗逆微生物能够给我们提供工业所需的各种特殊生物催化剂——极端酶制剂，从而突破普通微生物酶制剂由于其高温或低温性能、耐酸碱性能差，不能很好满足工业生产要求，极端酶制剂的开发已成为未来酶制剂工业的一个重要发展方向；抗逆微生物也为低温发酵或高温发酵提供了可能，如生物乙醇高温发酵能够有效地将酒精发酵与乙醇蒸馏工艺紧密结合起来，一方面极大地提高了发酵产率，另一方面又极大地节约了乙醇蒸馏能耗，因此在未来，抗逆微生物可以很大程度上降低生物产业能源消耗，提高产率等。可见抗逆微生物在未来降低人类活动碳排放、节约能源、改善环境方面会起到越来越

重要的作用。

然而，抗逆微生物在特殊环境中具有与普通微生物相似的代谢活力吗？它们如何平衡抗逆性和功能性？抗逆性的本质是什么？是否具有抗逆基因？能否在理解抗逆微生物抗逆性的基础上，将其抗逆性转入功能性高的普通微生物中？上述问题需要长期研究才能回答。

撰稿人： 董志扬　东秀珠
中国科学院微生物研究所
审稿人： 杜昱光　金　城

环境微生物菌群表征

Characterization of Microbial Flora

微生物个体微小、结构简单，具有极高的生长和繁殖速度，广泛分布于地球表层的生物圈中。正是由于它们个体过于微小，微生物不论在自然环境还是在人为环境，都是通过菌群集合的方式“以量取胜”的。

在一个菌群中，微生物除了与环境的理化因子发生相互作用外，还与群体中的其他微生物发生着极为复杂的相互作用，因此我们观察到的菌群作用通常是种群间相互作用的结果。如人的口腔中的微生物超过 500 种[1]，其中牙菌斑——一种寄居在牙齿表面的、以细菌为主体的菌群的生态变化与口腔常见病如龋齿和牙周病关系密切。牙菌斑由不同种类的微生物按照时间顺序先后定植在牙齿表面而形成，其中的微生物物种组成相当复杂。牙菌斑中的同一种群通过细胞密度感应系统（quorum sensing system）来调整细胞的生长和代谢。而不同种群为了争夺有限的空间和营养来源，进化出一系列方式进行生存竞争。如变形链球菌（*Streptococcus mutans*）通过产生乳酸和细菌素来抑制其他口腔细菌的生长，而寡发酵链球菌（*Streptococcus oligofermentans*）和其他口腔血链球菌则通过产生高浓度的过氧化氢而抑制变形链球菌的生长，形成物种之间的拮抗[2]。

在一个菌群中，形态结构、生理功能不同的微生物之间也可以相互协作、相互配合，这在大分子有机物厌氧降解过程中表现得尤为突出。在水稻田、水底沉积物、泥炭沼泽等厌氧环境中，大分子有机物在多种生理功能类群的微生物的协同作用下，被彻底分解产生甲烷[3]，这些微生物包括水解发酵细菌、产氢产乙酸细菌和产甲烷菌（图 1）。

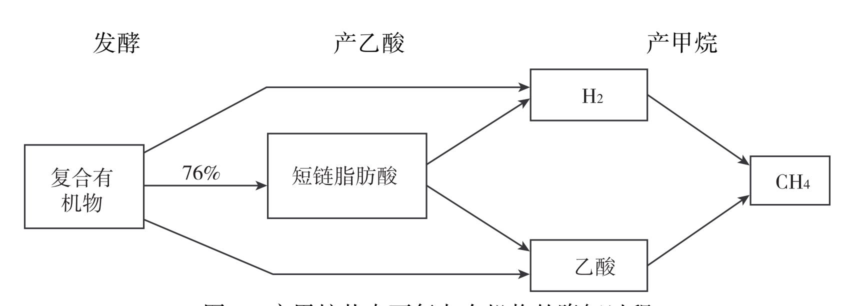


图 1　产甲烷状态下复杂有机物的降解过程

而在人工建造的厌氧消化器如上流式厌氧污泥床（up-flow anaerobic sludge bed，UASB）反应器中，能够培育出具有优良理化特性和生物学特性、产甲烷活

性很高的一种具有特殊空间结构的微生物菌群——颗粒污泥。这种颗粒污泥呈规则和不规则的拟圆形颗粒结构，形成了功能微生物的自固定化而长期保留在厌氧消化器中，确保了厌氧消化过程的稳态运行。研究者们已利用各种微生物学分析、生理生化分析、光学显微技术、电子显微技术和激光扫描显微技术分析了颗粒污泥的形成、作用、细菌组成和种群空间分布，并提出了几种 UASB 颗粒污泥中发酵产酸菌、互营细菌和产甲烷菌的分布模式[4,5]。

某些定植在动物消化道（如反刍动物的瘤胃和白蚁的后肠）中与动物共生的微生物菌群中虽然没有形成特定的空间结构，但在长期进化过程中，不同代谢类型的微生物在宿主提供的良好生存条件（稳定的有机物供给、稳定的理化条件、充分的搅拌等）下，通过分泌到细胞外的各种酶类和各种微生物的协同作用，能够更加高效地完成对大分子有机物的彻底降解[6]。而自身无法降解纤维素类物质的反刍动物和白蚁的生存完全依靠消化道内的微生物菌群降解纤维素类物质产生的小分子有机酸和菌群本身提供的单细胞蛋白。

微生物个体虽然微小，但是微生物菌群却在整个地球的物质循环中起着不可或缺的重要作用。微生物菌群不是微生物个体的简单集合，而是经过长期进化形成的个体间“分工合作”式的生理功能的有机整体，但它们之间如何合作及合作机制仍很不清楚，包括：①菌群的单一成员在群体中的作用是什么？②菌群中目前认为是冗余的成员对整个菌群结构和功能有何影响？③如何构建一个结构和功能与自然状态相同或近似的人工菌群？在微生物菌群中，同一种群内部和不同种群的个体之间都表现出错综复杂的相互关系，因此需要从微生物个体和群体两个角度全面了解微生物菌群的结构和功能。由于缺乏对于微生物生理生化特性、代谢调控机制以及对微生物种群内部和种群之间物质、信息交流的深刻了解，所以目前我们对于微生物对环境因子的应答、同种微生物之间的信息交流以及不同微生物之间的合作与拮抗等关键问题的认识还有待于进一步深入。要全面理解微生物菌群的结构和功能，还需要广大科研工作者长期不懈的努力。

参 考 文 献

[1] Kroes I，Lepp PW，Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. Proc Natl Acid Sci USA，1999，96：14547-14552

[2] Tong H，Chen W，Merritt J，et al. *Streptococcus oligofermentans* inhibits *Streptococcus mutans* through conversion of lactic acid into inhibitory H_2O_2：a possible counteroffensive strategy for interspecies competition. Mol Microbiol，2007，63（3）：872-880

[3] McCarty PL. One hundred years of anaerobic treatment. In：Hughes DE，Stafford DA，Wheaty BI，et al. In Anaerobic Digestion. Amsterdam：Elsevier，1982，3-22

[4] Guiot SR，Pauss A Costerton JW. A structured model of the anaerobic granule consortium. Water Sci Technol，1992，25：1-10

［5］ Gonzalez-gil G，Lens PNL，Aelst AV，et al. Cluster structure of anaerobic aggregates of an expanded granular sludge bed reacter. Appl Environ Microbiol，2001，67：3683-3692
［6］ Mackie RI，Aminov RI，White BA，et al. Molecular ecology and diversity in gut microbial ecosystems. In：Cronjé PB. Ruminant physiology：Digestion，metabolism，growth and reproduction. Oxford：CABI Publishing，2000，61-77

撰稿人： 宋　磊　东秀珠
中国科学院微生物研究所
审稿人： 曹竹安　金　城

益生菌：科学还是伪科学？

Probiotics：Science or Pseudoscience ？

1　益生菌概念的产生

人体肠道及体表栖息着数以亿计的细菌，其种类多达 400 余种，重 2kg 左右，其中包括有益菌、有害菌以及介于两者之间的条件致病菌（图 1）。自从 1908 年诺贝尔奖得主梅契尼科夫（Elie Metchnikoff）提出益生菌概念以来，世界各地开展了对益生菌的广泛科学研究，为证实益生菌对人体健康的有益功效提供了大量的研究证据。

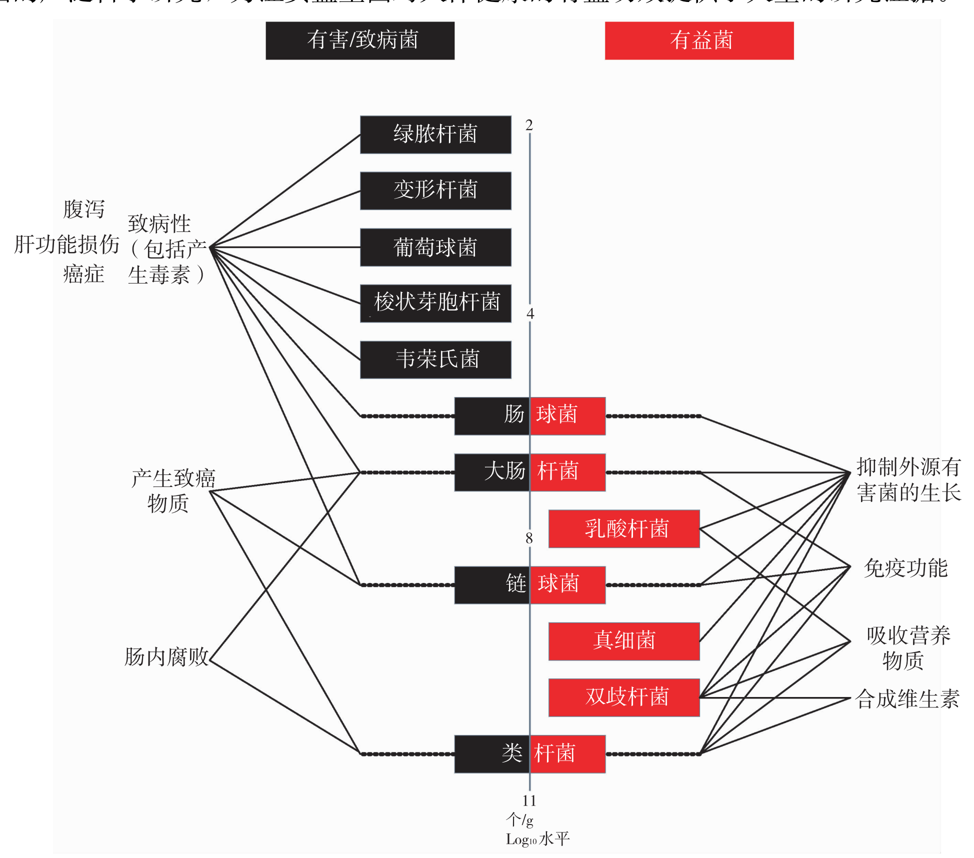


图 1　粪便菌群的主要组成及其作用

目前普遍接受的益生菌定义为：通过摄取适当的量，对食用者的身体健康能发挥有效作用的活菌[1]。这一定义的关键在于“活菌”，即通常认为只有经过临床试验证实确实有益的、活的细菌在成功定殖人体后才能发挥益生作用。而要通过食用顺利到达人体肠道，一方面细菌本身在食用介质中要保证存活，另一方面细菌的绝对数量必须足够多，此外细菌还需要耐受人体消化道的各种苛刻环境，并在肠道众多的原生菌群中保持生长优势从而顺利繁殖。目前满足这一苛刻概念的细菌以乳酸杆菌属和双歧杆菌属居多，而这两个属又是传统发酵乳品（如酸奶）的主要菌种，因此目前市场上的绝大部分食用益生菌均以发酵乳品形式存在[2-3]。

2　益生菌的益生功能

事实上，发酵乳品在人类文明的萌芽之际就已经被广泛应用，但是人们真正开始认识并研究其中的细菌却不过短短一个世纪。梅契尼科夫正式提出益生菌的概念和理论是源于其对于保加利亚长寿村人群饮食发酵牛奶习惯的研究，从 20 世纪 50 年代开始，大量的科学研究和数据支持了梅契尼科夫的观点，证实补充益生菌在改善乳糖不耐受症，降低血液胆固醇，激发细胞免疫反应，产生维生素，在抗生素治疗下益生菌维持肠道菌群正常以及抑制致病菌增值方面发挥了积极的作用（图 2）。此外，由于许多益生菌直接来源于人体或长期与人体共存，有着其他微生物不能比拟的安全性，因此将其作为基因改造的载体或作为疫苗的实验也正在进行[4]。

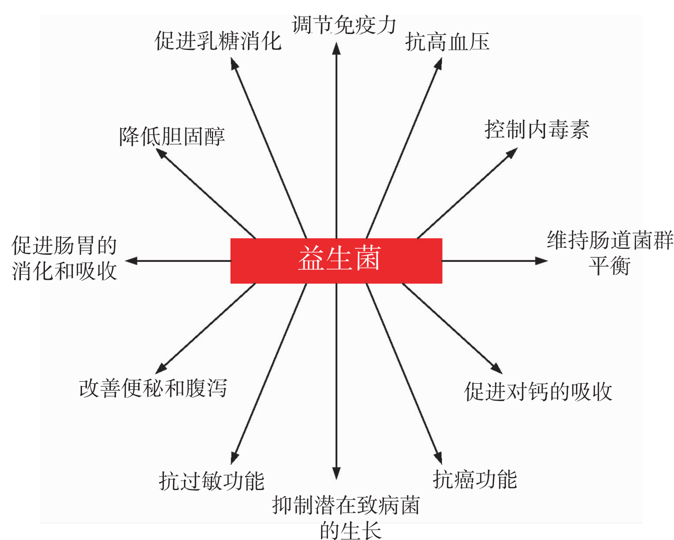


图 2　益生菌的益生功能

3 益生菌开发

3.1 存在的问题

伴随人们生活水平的提高，益生菌市场得到了蓬勃发展。尤其是近些年，原本沉寂的国内益生菌市场突然兴起，市场上的“益生菌”产品层出不穷，所开发的功能也越来越广泛[5]。这些产品填补了国内益生菌市场的空白，并在一定程度上对人类的健康起到一定的促进作用。但另一方面，随着国内益生菌市场的日益壮大，国内相关标准的滞后使蓬勃发展的益生菌市场愈发混乱，许多公司的“益生菌”产品远没有达到其所宣称的益生功效，从而使人们对于益生菌本身的价值产生了怀疑。国内学者曾撰文对益生菌保健品的保健作用提出了三点质疑：市场上的产品中是否含有活性益生菌，这些活菌能否安全到达肠道以及它们能否真正对宿主产生影响。而 2007 年荷兰关于某益生菌产品研究的负面新闻更是引发了对益生菌产业发展的新一轮思考。一方面是巨大的应用潜力和市场，另一方面却是过于夸大的宣传和尚不规范的市场。在这样的背景下，许多对益生菌寄予厚望的人逐渐提出了这样的疑问：近一个多世纪以来科学家开展的益生菌研究究竟是科学还是伪科学？

3.2 “益生菌”的“伪科学性”

由于当前益生菌市场发展迅速但却缺少与之相关的行业标准，导致目前市场状况较为混乱，部分商家标榜的“益生菌”并无科学性所言，主要表现在：

3.2.1 概念混乱

根据 Fuller 提出的“有用益生菌”的概念，益生菌必须满足四个条件：能够大量以活菌形式制备，储存和使用时稳定性得到保持，能存活于肠道环境以及对宿主切实有益。以国内发酵乳制品行业为例，目前国内许多乳品只是使用了普通的乳酸菌菌种作为发酵剂（如保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌，国内 2005 年颁布的《益生菌类保健品申报与评审规定》中将其划分为益生菌），但却往往将自己的产品贴上益生菌乳品的标签，而在实际应用中这些所谓的“益生菌”往往不符合“有用益生菌”的概念，根本发挥不了相应的保健作用。

3.2.2 活菌数低

目前国内对于益生菌保健品的活菌数定为 100 万个/ml，与国际标准的 1000 万个/ml 相差一个数量级。实际上，目前部分国外益生菌产品的活菌数（CFU）已号称达到了 100 亿个/ml。同时，国内益生菌饮品保存时间较短，这一历史遗留问题源自 2005 年之前国内对乳酸菌饮料的检测标准，即生产后检出有活菌即可。虽然目前新标准明确提出了 100 万 CFU 必须贯穿于饮品的整个保质期，但目前大部分

益生菌饮品的菌体活性问题仍令人担忧。

3.2.3 功能不确切

国内益生菌研究起步相对较晚，尚缺乏经过临床验证的拥有自主知识产权的优良菌株。1983 年，美国北卡罗来纳州立大学的两名教授 Gorbach 和 Goldin 自健康人体分离出了鼠李糖乳杆菌 LGG，在随后 20 多年的研究中围绕其有 300 多篇研究文献（其中临床研究文献 100 多篇）和 20 多篇博士论文。通过长期的研究积累，人们认识到 LGG 具有平衡和改善胃肠道功能、增强人体自身免疫能力、促进双歧杆菌和嗜酸乳杆菌生长、预防和帮助治疗腹泻、预防呼吸道感染、排出毒素、预防龋齿、预防过敏等确切的功能。与之相比，目前国内围绕益生菌开展的科学研究以及商业化运作基础仍较为薄弱，部分商家在没有得到充分的科学验证的基础上，盲目夸大产品的功效，这也正是造成国内舆论质疑益生菌产业的主要原因。

3.3 益生菌的科学性

虽然在益生菌的开发中还存在诸多问题，但令人欣慰的是，在已经取得的研究成果中，针对益生菌菌种的筛选、益生产品的开发及其特定生理功能的考证都充分证明了益生菌研究的科学性[6]。随着理论水平和科学技术的不断发展以及人们对益生菌认识的不断深入，许多新技术、新方法、新策略正在应用于益生菌的研究开发中，构成了益生菌研发的理论基础。目前，许多益生菌开发中的瓶颈问题正在被逐渐攻克[7-9]。

3.3.1 益生菌的筛选

益生菌筛选的标准是安全性、功能性和可加工性。安全性是益生菌筛选的最基本和首要的工作，这就要求益生菌必须从健康人的肠道中分离，并且经过特定时间内的无致病性验证。同时，益生菌不能具有与某些疾病（如心内膜炎、肠道不适症）相关联的历史，不能携带可以转移的抗生素基因。益生菌的功能性包括耐酸和耐胆汁特性，这是益生菌必须具备的特性，也是益生菌发挥益生功能所必须满足的前提条件。其次，益生菌的功能性还有黏附特性、免疫刺激、对病原菌的拮抗作用等。可加工性主要针对益生菌在工业生产中必须满足的一些特性如生产、储藏中的稳定性，抗噬菌体能力等。此外，对益生菌的安全性和功能性评价都必须经过体外实验、动物实验和人体临床实验三个阶段，只有通过上述三阶段的“考验”才能成为合格的益生菌。

3.3.2 益生菌活性的维持

由于益生菌需要以活菌形式发挥作用，因此除了发酵结束时有足够的活菌浓度外，还需要保证其在整个储存期或货架期保持生命状态。而生命力的保持可以改造益生菌的存在状态，也可以将益生菌与外界恶劣环境隔离。就改变自身而言，目前工业化最常用的方法就是冷冻干燥和喷雾干燥。但是干燥本身也带来一个问题，在

高温、低温和脱水等处理条件下，原本高密度培养细胞存活数将大打折扣。如何在保证细胞存活率的基础上延长细胞保存时间是目前研究的热点。冷冻干燥中，添加保护剂是最常使用的方法。有研究者发现甘露糖的添加能通过促进德氏保加利亚乳杆菌胞外多糖的分泌，进而提高其冷冻干燥后的存活率。而喷雾干燥研究中，研究者发现在进入喷雾干燥前的亚适应处理能提高副干酪乳杆菌对于随后高温条件的适应能力。当然，这两种思路也不一定局限于各自研究，可以交叉应用。不过相比而言，亚适应由于处理环节较为复杂，目前尚停留在研究阶段。此外，提高细胞稳定性的另一个思路是将益生菌与恶劣环境隔离，常使用微包囊技术，如传统的海藻酸盐对益生菌细胞进行包埋处理。

3.3.3 益生菌胁迫耐受力的提高

有用益生菌的一个重要性质是耐受各种环境下的胁迫条件[10]。益生菌的胁迫环境贯穿发酵、下游处理、储存以及到达肠胃等消化道的全过程，其中包括发酵、储存和肠胃中所遇到的酸胁迫、体内的胆盐胁迫、处理和保藏过程中的温度胁迫以及几乎存在于所有过程的氧胁迫。目前，该方向的研究思路主要围绕菌种筛选和菌种改造两方面进行。对于高耐受性益生菌的筛选，常以益生菌所处的胁迫环境作为筛选条件。如有研究者从益生菌嗜酸乳杆菌的 7 个不同株出发，通过模拟消化的 90min 酸环境和胆盐环境进行筛选，得到了双耐株。通过比较双耐株与出发菌之间的区别（如菌体蛋白表达比对），可以进一步揭示抗性产生的原因。如有研究者发现了控制 F_1F_O-ATP 蛋白表达的基因，而这个蛋白所形成的质子泵能够通过泵出质子维持胞内 pH 恒定，从而增强细胞酸胁迫下的生存力。同样，也有研究者发现了与长双歧杆菌氧胁迫能力有关的蛋白 Osp。这些研究都为深入理解益生菌胁迫耐受机理，进而有目的地改造益生菌提供了理论基础。而事实上，通过人为改造菌种产生或加强其对于胁迫环境的优良抗性的工作也正在进行中。但是由于益生菌通常应用于食品行业，因此这部分工作的关键在于安全的食品级表达系统的构建（如糖利用标记、营养缺陷性标记和细菌素抗性标记）。

3.3.4 益生菌研究的前沿进展

目前开展的关于益生菌的研究工作主要集中于对益生菌自身及其所处微环境的两方面认识。截至 2005 年，以嗜酸乳杆菌（*Lactobacillus acidophilus*）为代表的 16 株乳杆菌、以嗜热链球菌（*streptococcus thermophilus*）为代表的 7 株链球菌以及 2 株长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）、3 株乳酸乳球菌（*Lactococcus lactis*）正在或已经完成了全基因组测序。2008 年 5 月，内蒙古农业大学对其从酸马奶中筛出的一株具有优良特性的干酪乳杆菌的全基因测序工作已经完成，这也是我国第一个独立完成的乳酸菌全基因测序。在测序结束之后，对于已知信息的整理和挖掘工作才是研究的根本目的。其中，基因芯片技术是挖掘数据最直观和有效的方法之一。Klaenhammer 等为了研究嗜酸乳杆菌的糖代谢途径，从全基因序列入手，

通过生物信息学手段预测了 1899 个可能的可读框，将其扩增之后做成基因芯片。再将不同碳源培养下的细胞破壁，提取总 RNA 反转录进行杂交。从杂交图谱得到了 8 种碳源在细胞中的代谢途径。而在未完全得到全基因序列前，双向电泳通常是一种比较有效的手段。有研究者通过比较德氏保加利亚乳杆菌在热胁迫前后总蛋白的双向电泳，发现了热胁迫后新表达的蛋白和表达量发生改变的蛋白。可以想象，细胞对于热胁迫应答的机理可以从这些改变的蛋白中找到答案。

另一方面，由于益生菌主要寄居于肠道，因而对于其所处微环境的认识通常是研究益生菌与肠道微生态之间关系的重要途径。有研究者通过 DGGE 电泳分析不同年龄的肠道菌群结构，从而勾勒出人类肠道内微生态结构随时间变化的趋势。研究发现，在人类大肠中有至少分属为 50 个属、几百个种的微生物，并且这些微生物随着大肠内部微环境（如底物获取难易、氧化还原条件、pH、氧强度）的不同而集聚在不同区域。人类肠道内微生物菌群的形成过程如下：新生婴儿出生时的细菌由母体所带给，主要以兼性厌氧菌如大肠杆菌和肠球菌为主。这些初始细菌生长中产生了高度还原的环境，使得严格厌氧菌能够生长；之后，婴儿肠道内的细菌随着膳食结构不同而产生差别：如以面包为主食的婴儿体内有大量的双歧杆菌而只有 1%的肠杆菌，而以配方奶粉为主食的婴儿肠道菌群结构更为复杂，包括双歧杆菌、类菌体、梭状芽孢杆菌和链球菌等；断乳后（2 岁以后），趋于成人的微生物群落结构得以形成。虽然目前对人类肠道益生菌的组成变化及功能认知尚不成熟，但这类研究的开展对于疾病的治疗以及有针对性地开发适合不同年龄的益生菌产品提供了积极的参考。

4　结束语

尽管目前益生菌市场发展还存在诸多问题，但是日趋完善的研究成果使益生菌的健康功效得到更广泛的认可。目前，益生菌产品在国外已形成较为成熟的市场。近年来，欧盟国家对益生菌产品的消费以每年 15%左右的速度增长，而全球益生菌乳品的消费者达 4～5 亿之多。在以科学为导向的益生菌的研究开发过程中，我们有理由相信，益生菌的进一步开发与应用将会带给我们更加美好的生活。

参考文献

［1］ Joint FAO. WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritioal properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba，Argentina. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic acid Bacteria. Available online at：http：//www. who. int/foodsafety/publications/fs _ management/en/probiotics. pdf. Accessed May. 2003，27

[2] Guarner F，Perdigon G，Corthier G，et al. Should Yoghurt Cultures be Considered Probiotic? British Journal of Nutrition，2007，93 (06)：783-786
[3] Salminen S，Ouwehand A，Benno Y，et al. Probiotics：How should They be Defined? Trends in Food Science & Technology，1999，10 (3)：107-110
[4] Rahman S，Khan S，Naser M，et al. Application of Probiotic Bacteria：A Novel Approach Towards Ensuring Food Safety in Shrimp Aquaculture. Journal of Bangladesh Academy of Sciences，2009，33 (1)：139-144
[5] 刘清泉．最具市场竞争力的益生菌发展现状及值得关注的几个问题．中国食品添加剂，2006，(006)：47-60
[6] Saarela M，Mogensen G，Fonden R，et al. Probiotic Bacteria：Safety，Functional and Technological Properties. Journal of Biotechnology，2000，84 (3)：197-215
[7] Ross RP，Desmond C，Fitzgerald GF，et al. Overcoming the Technological Hurdles in the Development of Probiotic Foods. Journal of applied microbiology，2005，98 (6)：1410-1417
[8] Lacroix C，Yidirim S. Fermentation Technologies for the Production of Probiotics with high Viability and Functionality. Current Opinion in Biotechnology，2007，18 (2)：176-183
[9] Prasad J，Gill H，Smart J，et al. Selection and Characterisation of Lactobacillus and Bifidobacterium Strains for Use as Probiotics. International Dairy Journal，1998，8 (12)：993-1002
[10] De Angelis M，Gobbetti M. Environmental Stress Responses in Lactobacillus：A Review. Proteomics，2004，4 (1)：106-122

撰稿人： 陈　坚　张　娟

江南大学

审稿人： 曹竹安　杜昱光

现代生物技术在环境治理中将扮演什么角色?

What Role does the Modern Biotechnology
Play in Environmental Treatment?

1 我国环境污染现状

随着人口、工农业生产和科学技术的飞速发展，气候改变、臭氧层消减、空气污染、饮用水质量下降、垃圾排放等生态环境的日益恶化已经严重影响到人类自身的生存和发展。据统计，全世界每年向自然界中排放的环境异生物质（xenobiotics）数以亿吨计，而我国是世界上环境污染最为严重的国家之一，从城市到乡村，我国的大气、河流、湖泊、海洋和土壤等均受到不同程度的污染。

为了更好地推进我国的循环经济和实施可持续发展，加大环境保护和环境治理力度，加快应用高新技术，大力发展环境生物技术，利用现代生物学技术来控制环境污染和保持生态平衡，提高环境质量，发展低碳经济迫在眉睫。

2 与传统方法相比，现代生物学技术在环境治理中的优点

传统污染治理技术包括传统的物理、化学处理以及燃烧等，如化学淋洗、掩埋、客土改良、焚烧和电磁分解等。这些方法虽然行之有效，但通常成本很高，并且极易造成二次污染。现代生物技术是以 DNA 分子技术为基础，包括细胞工程、酶工程、基因工程、微生物工程等一系列生物高新技术的总称。与传统的物理化学修复技术相比，现代生物修复技术具有可以原地进行、投资少、对周围环境的扰动小、对污染物的去除具有持久性、可以与物理化学方法结合使用、生态协调而易于被公众接受等优点，具体如下：

1）细胞工程利用细胞融合技术构建环境工程菌；培育多种抗污染型植物，如抗虫、抗病毒、抗除草剂、耐受环境压力（包括抗旱、抗热、抗寒等）等。

2）酶工程技术能处理难以生物降解的化合物，降解的产物以及副产物大都是可以被生物重新利用的，有助于把人类活动产生的环境污染减轻到最小程度，不留下长期污染问题，同时也对垃圾废弃物进行了资源化利用；对高浓度或低浓度废水都适用；操作时的 pH、温度和盐度的范围均较广；不会因生物物质的聚集而减慢处理速度，处理过程的控制简便易行；与常常需要高温高压的化工过程相比，反应

条件大大简化，具有设备简单、成本低廉、效果好、过程稳定、操作简便等优点。

3）基因工程为改变细胞内的关键酶或酶系统提供了可能，可以提高微生物的降解速率；拓宽底物的专一性范畴；维持低浓度的代谢活性；改善有机污染物降解过程中的生物催化稳定性等。

4）发酵工程涉及最早的领域是废水生物处理，利用发酵工程技术处理污染物质，最终的转化产物大都为无毒无害的稳定物质，如二氧化碳、水、氮气和甲烷气体等，由于避免了重复污染，因此被认为是一种既安全又彻底消除污染的手段。

可见，与传统方法相比，生物治理方法的优点较为显著。采用生物清除环境中污染物的生物修复技术极具应用前景，展现出在未来环境治理中的发展潜力。

3 现代生物技术在环境治理中应用

现代生物技术的污染控制应用为重金属废水、石油废水、印染废水、油脂废水、农药废水、生活污水等提供效果好的、成本低的生物治理技术和设备。

3.1 化学农药的生物降解

利用基因工程构建高效菌种来治理污染，特别是人工合成物（如化学农药等）造成的环境污染是现代环境生物技术发展的热点之一，也是未来环境生物技术发展的趋势所在。

微生物降解农药作为一种安全有效的方法已成为消除农药对环境污染的一个重要方面。目前使用的农药主要是有机磷、有机氮和有机氯农药。降解农药的微生物中，细菌主要有假单胞菌属、芽孢杆菌属、产碱菌属、黄杆菌属、节杆菌属等；放线菌有诺卡氏菌属、链霉菌属等；真菌有木霉属、曲霉属、青霉属、酵母属等，以曲霉属为代表。能够直接降解农药的微生物种类和数目在自然界中为数不多，主要途径是对农药进行转化，通过产生适应性酶、利用降解性质粒、组建超级菌株、共代谢等方式将农药转化，再经联合代谢的方式进行降解。例如 2，4-D（2，4-二氯苯氧乙酸）是高效低残留的除草剂，在土壤中降解相当迅速，半衰期仅几天或几周，有 10 多种细菌可使其降解。DDT（4，4-二氯二苯三氯乙烷）是众所周知的在环境中长期残留的一种农药，半衰期在半年以上。已有证据表明产气杆菌和一种氢单胞菌可通过共代谢作用将 DDT 转变为对氯苯乙酸，后者可被土壤和水中的其他微生物通过联合代谢继续降解。

近年来，伴随着基因工程和分子生物学研究技术的发展，科研工作者开始把重心转移到高效工程菌的构建，使人们可按照人类的需要组建具有特殊功能的降解质粒，产生出降解效率高、降解范围广、表达稳定的新的菌株。随着基因工程的进一步发展，微生物在农药降解方面的潜力会得到更充分的体现[1,2]。

3.2 污染土壤的生物修复

当代矿产资源的大量开采利用、工业生产的迅猛发展以及化学药品的广泛使用带来的一个突出的问题是如何控制和减轻重金属对环境的污染。目前，重金属污染的修复仍然是比较困难的问题，传统的治理方法在已污染环境的改良和治理方面曾起到积极的作用，但这些方法不仅所需费用昂贵，还可能导致二次污染，不能从根本上解决问题。

生物修复技术是指运用现代生物技术，使土壤的有害污染物得以去除，土壤质量得以提高或改善的一种修复方法[3]。生物修复技术与其他治理重金属污染土壤的技术相比，具有成本低、效率高、无二次污染和适用范围广等优点，是替代物理化学修复的一种具有显著优势的修复技术，它主要包括植物修复［又分为植物稳定（phytostabilization）、植物挥发（phytovolatilization）和植物提取（phytoextraction）三种类型］（图 1）和微生物修复两种修复技术。

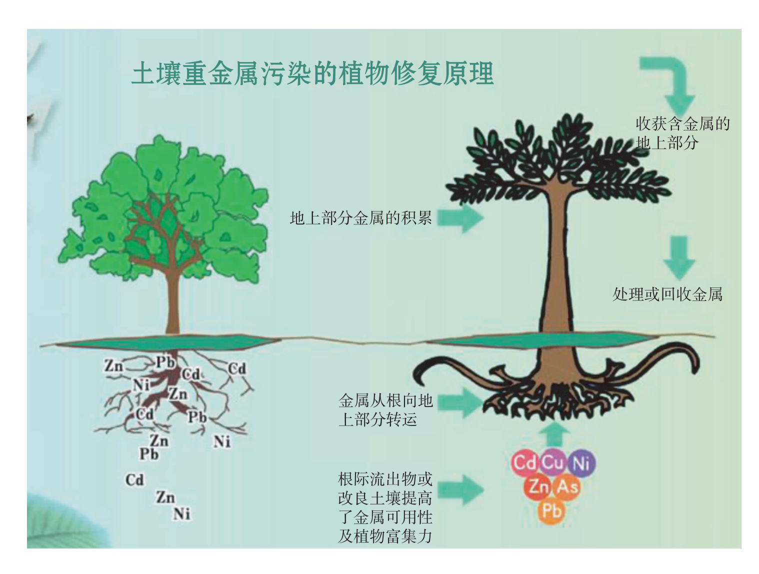


图 1　土壤重金属污染的植物修复原理

3.3 城市垃圾的生物处理

目前，对于可生物降解的城市垃圾的处理，世界各国主要采用堆肥、卫生填埋、厌氧发酵等处理方法（图 2）。利用生物技术方法处理生活垃圾，不仅避免了化学处理方法对环境造成的二次污染，同时也可以避免挖坑填埋处理方式侵占土地及对环境造成潜在污染的弊端，是目前最受推崇的城市垃圾处理方式。

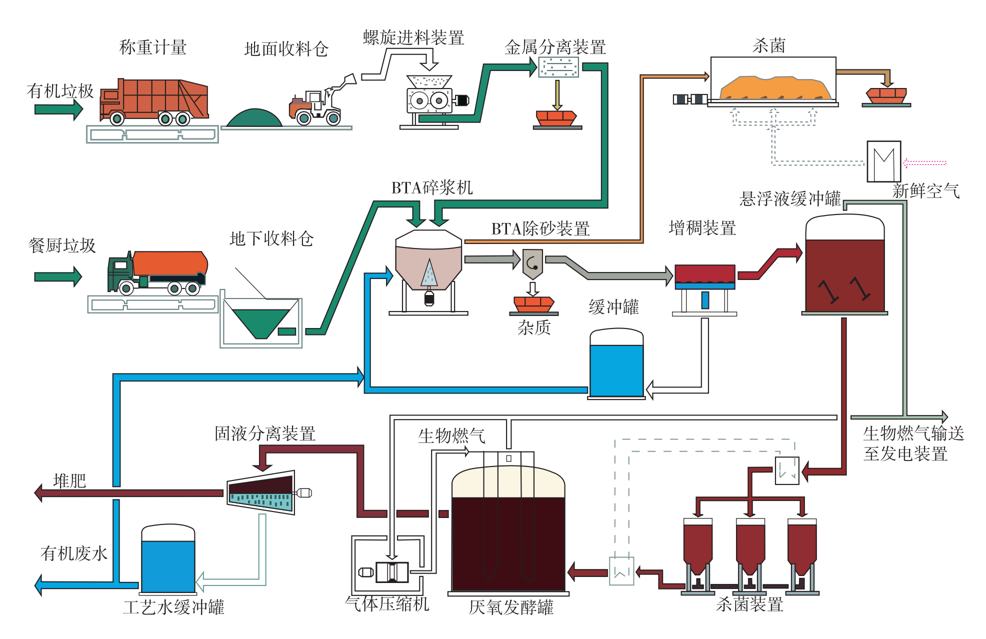


图 2　城市垃圾的综合分类处理方式示意图

城市垃圾的最新处理技术是生物反应器式填埋场，一般分为厌氧式、好氧式、二者结合式，其中厌氧式已接近实用阶段。生物反应器式填埋场的优点是：①垃圾渗滤液的回流速度可以强化和调节微生物的代谢活性；②填埋场废气产生高峰期可以控制在选定的时段内，甲烷的总量远高于卫生填埋场，提高了容积利用率；③垃圾渗滤液的反复回流，在透过富含厌氧微生物的垃圾层过程中，其中常含的毒害性化合物会被降解或去毒。

与现代卫生填埋场相比，上述方法大大减少了场外后处理费用。目前，生物反应器式填埋场已在美国获得广泛的关注，已被认为可能是对固体废弃物处理的革新技术。

3.4　废水的生物净化

污水中有毒物质的成分十分复杂，微生物通过自身的生命活动可以解除污水的毒害作用，从而使污水中的有毒物质转化为无毒物质，使污水得到净化。生物技术在废水处理中的应用非常广泛，传统的生物处理技术，如活性污泥法、生物膜法以及在新的理论和技术下产生的强化处理技术和工艺，如好氧活性污泥法、生物流化床、厌氧污泥床、环境生物制剂等，是当今生物处理废水中应用最广泛的技术之一，由于其本身技术的不断改进以及与其他高新技术的不断融合，目前该方法仍是环境污染治理的主要手段[4]。

3.4.1　好氧活性污泥法

好氧活性污泥法是利用含有大量需氧性微生物的活性污泥，在强力通风条件下使污水净化的生物技术。传统的好氧活性污泥法的缺点是废水中污染物浓度变化，特别是一些具有抑制作用的污染物对细菌活性具有明显的抑制作用。使用驯化后的活性污泥可以抵抗高浓度污染物的抑制作用，如用驯化后的混合菌可连续降解有毒有机氯化物。

生物曝气滤池（图3）处理生活污水及资源化利用技术集生物处理和过滤两种功能于一体，出水水质优良，是一种高效的新型生物反应器，极适用于生活污水和工业有机废水的处理及资源化利用。生物工程技术处理油脂化工废水利用来自自然界又经培养驯化的功能菌株，根据废水和污水的不同性质、组成，配制不同菌株，通过发酵培养形成多功能复合型菌液，用于油脂化工、化工有机废水、食品、印染、生活污水、工业废水的处理。

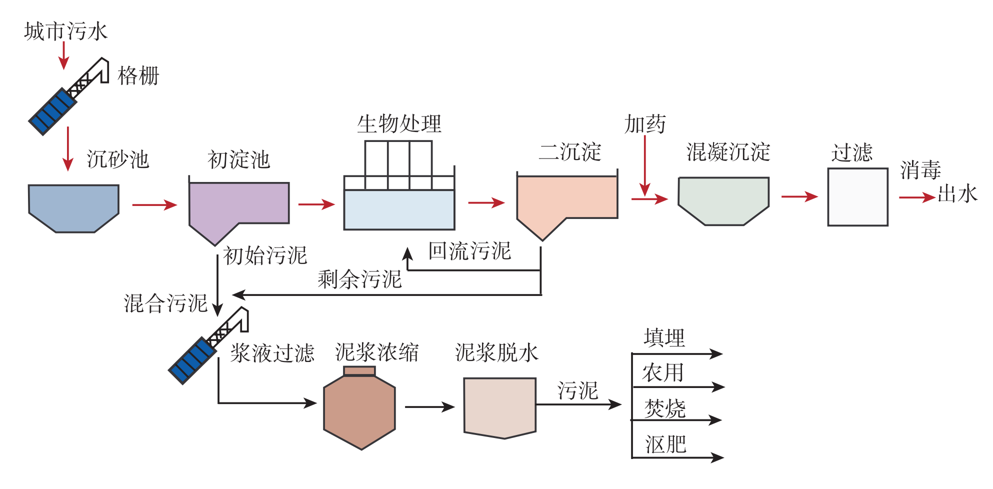


图3　生物瀑气池示意图

3.4.2　Fenton 流化床废水处理法

Fenton 氧化法是利用过氧化氢和亚铁离子反应，产生强氧化剂，将废水中的有机物氧化并去除的一种化学处理法。Fenton 流化床是利用流化床的方式使 Fenton 法所产生的三价铁大部分结晶或沉淀。该方法是与同相化学氧化、异相化学氧化、流化结晶等功能相结合的一项新技术。铁氧化物具有异相催化的作用，而流化床的方式也提高了化学氧化反应及质传效率，使 COD 及色度的去除率提升。Fenton 氧化法处理难降解的有机废水时，具有一般化学氧化法无法比拟的优点，至今已成功运用于多种工业废水的处理[5,6]。

3.4.3　升流式厌氧污泥床

升流式厌氧污泥床（UASB）反应器是最成功的厌氧处理过程之一（图4），它

能够以颗粒状污泥的形式维持很高的生物量，从而允许反应器高速率运行。其主要由进水配水系统、反应区、三相分离器、气室和处理排水装置等组成，具有容积负荷高、水力停留时间短、能耗低、污泥产量低等优点。

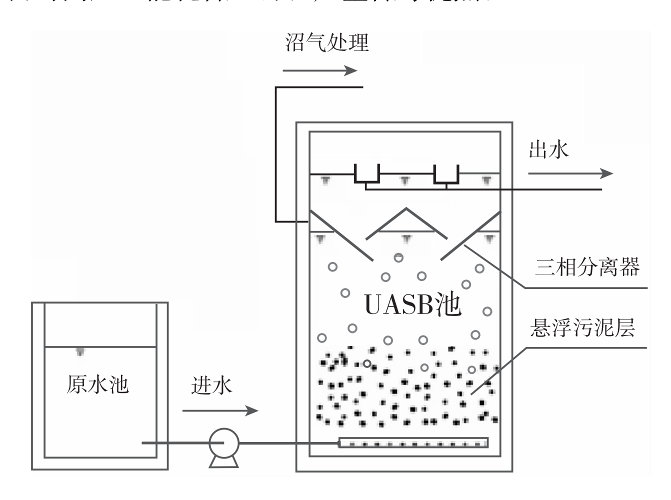


图 4　UASB 工艺原理图

近年来，升流式厌氧污泥床工艺在国外发展很快，国内也已有生产性规模装置，该工艺既节约了能源，甚至可回收能量，又解决了环境污染问题，取得了较好的经济效益和社会效益。这种新工艺的研究和发展具有广阔的应用前景，目前国外也有很多这方面的废水处理应用实例[7,8]。

3.4.4　环境生物制剂废水处理

环境生物制剂包括新型微生物菌剂、生物吸附剂、微生物絮凝剂、生物催化剂、生物破乳剂、特种环境微生物菌种等用废水生物强化处理的微生物菌剂及材料或通过微生物转化制备用于改善环境的产品，被认为是目前废水生物处理技术最具有发展潜力的方向。

3.4.5　固定化细胞技术

固定化细胞技术是 20 世纪 70 年代兴起的一种新型生物技术，包括固定化酶技术和固定化细胞技术。该技术可以大幅度提高参加反应的微生物浓度，增强微生物的耐环境冲击性；同时使产物易于提取，操作稳定性显著提高。用固定化细胞技术来处理废水废气，适应性广，无须进行酶的提取操作，成本相对较低，稳定性也较高。1983 年，英国采用固定化细胞反应设备处理含氰废水，这是生物技术在环境科学领域中应用的先例。我国近年在应用固定化细胞技术降解合成洗涤剂中的表面活性剂——直链烷基苯磺酸钠（LAS）方面的研究也已取得进展。降解含 LAS 100mg/L 的废水，去除率和酶活性保存率均在 90％以上，反应 15h，细胞活性无明显下降，再培养后，可恢复固定化细胞的酶活性。

4　结束语

现代生物技术的发展，为环境生物技术向纵深发展增添了强大的动力，生物技术无论是在生态环境保护方面，还是在污染预防和治理以及环境监测方面，都显示出独特的功能性和优越性。但是，环境生物技术在应用中还存在一定的问题与困难，主要表现在：①反应速度不如化学法快，因而需要较大的反应器和占地面积；②对原水水质有一定的要求，否则会妨碍微生物的生长；③运行中有时会产生污泥膨胀和流失，剩余污泥也较难处理；④对于一些人工合成物，特别是难生化降解物质，通常的微生物降解法尚显得无能为力；⑤大规模工程微生物的应用可能对生态系统造成一定影响；⑥微生物修复技术虽然具有成本低、效果好、对环境负面影响小且无二次污染等优点，但同时也存在修复周期长、对高浓度污染物直接处理具有局限性、受环境及营养因素影响大等不足。

因此，尚需培养新的特效物种并进一步提高其应用效率、降低应用成本；运用各种相关技术加以优化组合，尤其是高效、低能耗、易普及的特种微生物与特殊工艺的最佳结合；加强不同专业、不同学科之间的合作，如将毒理学和微生物学与环境工程相结合；重点从根本上消除污染源，充分协调人与自然之间的关系，充分实现废物资源化；引入 DNA 扩增和其他生物技术的环境监测方法。

随着大工业生产技术的飞速发展，生物方法处理或修复的对象也在不停改变，这势必将推动现代生物技术的不断改革创新。我们有理由相信，现代环境生物技术的进展与突破将为环境问题的最终解决发挥关键性的作用。

参 考 文 献

［1］ 李岩，蒋继志，刘翠芳．微生物降解农药研究的新进展．生物学杂志，2007，24（002）：59-62

［2］ Cai X，G Sheng，W Liu. Degradation and detoxification of acetochlor in soils treated by organic and thiosulfate amendments. Chemosphere，2007，66（2）：286-292

［3］ Yinhua C. The methods and applications of using the bioremediation of heavy metal contaminated. Fujian Agri Sci & Tech，2006，3：62-64

［4］ 吴会中，戴长虹，宋祖伟．现代生物技术在废水处理中的应用进展．环境污染治理技术与设备，2003，4（005）：56-59

［5］ Zhu LH，et al. Treatment of butralin wastewater by Fenton Oxidation and biochemical processes. Technology of Water Treatment，2008，34（7）：51-54

［6］ Qi P. Study on Advanced Treatment of Pharmaceutical Wastewater Containing Antibiotic by Fenton Oxidation Cooperated with Active Carbon Adsorption. Water Purification Technology，2008，27（6）：38-41

[7] Liu HL，WJ Xie，XH Wang. UASB/MBR Process for Treatment of Antibiotic Wastewater. China Water & Wastewater，2009，25（15）：52-54
[8] Dong F，et al. Monitoring the restart-up of an upflow anaerobic sludge blanket（UASB）reactor for the treatment of a soybean processing wastewater. Bioresource Technology，2010，101（6）：1722-1726

撰稿人： 陈　坚
江南大学
审稿人： 欧阳平凯　孙际宾

诠释生命与重塑生命：系统生物学和合成生物学横空出世

Interpretation and Creation of Life：Research on Systems Biology and Synthetic Biology Soars

20 世纪中叶以来，工程系统和生物系统的发展沿着两条不同的路径进行，并且产生了很不同的结果。以信息论、控制论和系统论为理论基础的系统工程应用在通信技术、计算机和智能机器、微电子、航空航天、石油化工、跨国公司经营、全球金融运作等工程及社会系统中取得了巨大的成功。而以基因重组技术（又称基因工程）为代表的现代生物技术也在差不多同一时期兴起和发展。相应的分子生物学及细胞生物学研究采用的是“还原论”认识方法，即将生物系统连续分解成更小单元，直至以单个基因和蛋白质分子为研究对象，试图通过由宏观到微观的过程，逐步分解、细化到生物体的各种分子及其功能的研究。经过半个多世纪的努力，现代生物学的研究取得了许多重要进展，积累了大量有关组成生命最小单元的细胞及各种基因、蛋白质及代谢物，包括各种受体、信号转导分子以及各种基因等的结构与功能的生物学知识。但是传统生物学研究的方法大都是以某单一基因或蛋白质为中心，以定性而不是定量的分析为主。在这样的情况下，其所作出的预测大都还是凭借直觉和其所掌握的生化知识，加上生物化学分析工具也只能单独分析特定的基因、蛋白质及代谢物，使得实验生物学成为耗时低效的工作。

随着世界上第一个基因组在 1995 年被完全测序[1]，世界逐渐进入了“基因组”时代。此时，高通量的生物测量工具如基因芯片扫描仪、气相和（或）液相色谱-质谱联用仪开始被广泛用来测量基因/蛋白质表达与调控，以及代谢网络结构与功能。自动化的高通量系统可以一次性对样品大量序列进行检测和分析，从而克服了传统生物分析技术操作繁杂、自动化程度低、操作序列数量少、检测效率低等不足。结果是在基因组学形成后，又产生了一系列的“组学”，诸如转录物组学、蛋白质组学、代谢物组学、表观基因组学等。这些“组学”能够在一次测量中同时获得细胞中全体转录物、蛋白质、代谢物等的变化数据。这些信息连同生物在不同发育阶段、不同生理状态、不同类型细胞中的基因表达谱，以及各种信号转导途径的路线图及彼此交织连接形成的网络代谢流，在分子水平上提供了有关生命活动过程中动态交互作用的海量数据，使我们探索生物系统生命本质的基础研究从假设驱动（hypothesis-driven）模式转变成数据驱动（data-driven）模式[2]。

科学发展于是做了个奇妙的循环，最先发轫于生物学研究的系统论，在引领了

工程科学高歌猛进半个世纪，推动人类社会物质文明大发展后，又开始回头作用于生命科学，奠定了系统生物学的基础。系统生物学是以整体性研究为主要特征的一种大科学。它不同于传统的实验生物学的地方在于，系统生物学研究一个工作中生物系统中所有组成成分（基因、mRNA、蛋白质、代谢物等）的构成，以及在特定条件下这些组分间的相互关系。美国人 Leroy Hood 是系统生物学的创始人之一。他所提出的系统生物学的基本工作流程分为四个步骤，首先是对选定的某一生物系统的所有组分进行了解和确定，并且利用已获得的系统信息，包括组学数据，描绘出该系统的结构，即基因调控网络和代谢途径，以及细胞内和细胞间的作用机理，以此构造出一个初步的系统模型。第二步是在系统达到稳定状态（或准稳定状态）时，有意识地以生物的、遗传的或化学的方法改变被研究对象的内部组成成分（如基因突变）或外部生长条件来干涉系统工作状态，使其趋向一个新的稳定状态。然后以高通量工具检测在这个状态变化下系统组分或结构所发生的相应变化，包括基因表达、蛋白质表达和相互作用、信号转导及代谢途径等的改变，并把得到的有关信息进行整合。第三步是把通过实验得到的组学数据与模型预测进行比较，据此修改初始数学模型。第四阶段是根据修正后的模型的预测或假设，设定和实施新的改变系统状态的实验，重复第二步和第三步，不断地通过实验数据对模型进行修订和精炼。系统生物学的最终目标就是要得到一个理想的模型，使其能够精确预测一个给定生物系统在各种不同基因型及生长条件下的表现型[3]。另一方面，日本的北野宏明提出由以下四个在分子水平的理解基础之上建立系统分析来理解生物学系统的方法[4]：

1）系统结构。它包括基因相互作用和代谢通路的网络，以及这些相互作用调节细胞内、细胞间结构的物理性质的机制。

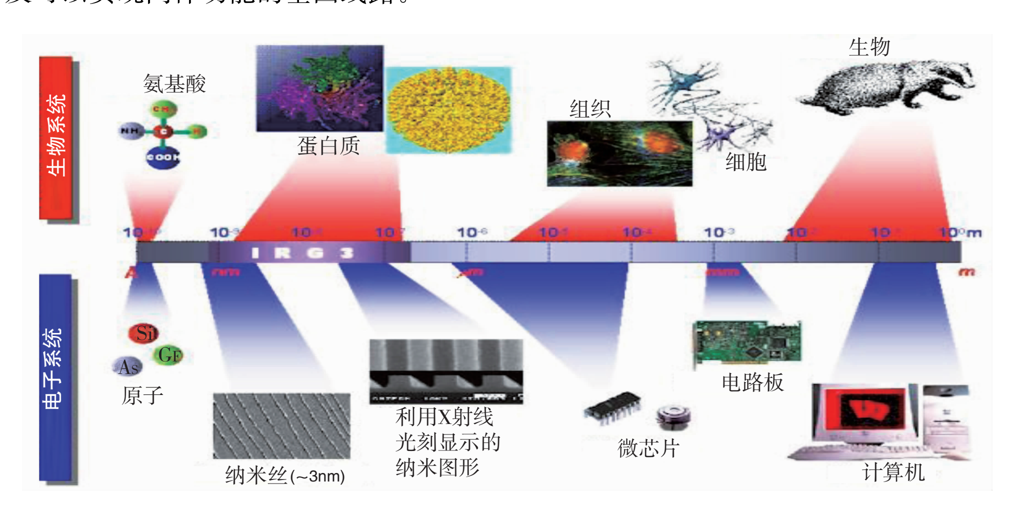
2）系统动力学。通过代谢分析、灵敏性分析、动力学分析方法如相位图、途径分析及特定行为的基本机制的识别来理解系统在不同条件下随时间变化的关系。分支分析跟踪多维空间中系统状态随时间的变化，其中每一维代表所包含的生化因素的一个特定的集合。

3）控制方法。调整控制细胞状态的机制，减少故障的发生，为疾病的治疗提供潜在的治疗目标。

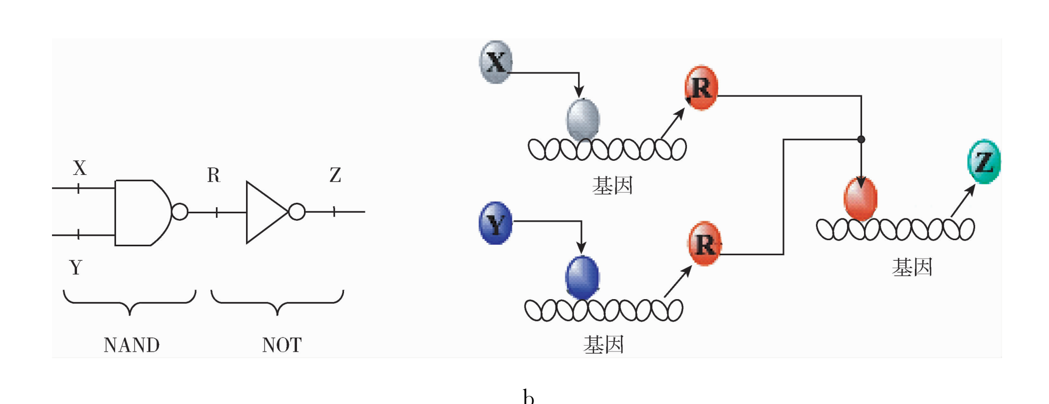
4）设计方法。基于明确的设计原则和仿真，而不是试差法来提供设计策略，修改和构造生物学系统，使其具备预期的特性。

合成生物学强调生物学与工程科学相结合，来解决能源、材料、健康和环保等问题。它的研究应用包括两个主要方面：一是通过对现有的、天然存在的生物系统进行重新设计和改造，修改已存在的生物系统，使该系统增添新的功能。二是通过设计和构建新的生物零件、组件和系统，创造自然界中尚不存在的人工生命系统。这里，合成生物学把生物系统当作工程系统一样处理：从“单元”（unit）到“装

置”（device）再到“系统”（system）来设计，修改和组装细胞构件。插入的单元可以是基因、核酸等生物“元件”，甚至也可以是化学的、机械的和物理的零件等。目前合成生物学正在开展的研究包括：改造由蛋白质、核酸与其他分子组成的细胞网络；二是构建类似逻辑电子线路的基因线路；三是合成生物材料与物质；四是设计最小基因组并且人工重塑生命，并以此了解生命。图 1 是生物系统和电子系统的一个类比。图 1a 显示了对应于电子系统从原子上升到计算机整机结构，生物系统也可以从最基本的氨基酸开始“装配”到一个真实的生物。图 1b 是逻辑门电路以及可以实现同样功能的基因线路。



a



b

图 1　电子系统与生物系统的类比及电子与基因的“与非门”电路[5]

合成生物学与传统的基因工程和（或）代谢工程有什么不同之处？同样都是改变细胞内网络以生产新产品或新功能，它们之间的区别在于合成生物学是从工程系统的角度出发进行设计，并且通过在细胞内植入适当的生物控制元件达到添加新功

能的目标。这些基本生物控制元件在制造方法和植入上的标准化和模块化可以促使统一生物元件备件库的建立。标准化使得未来的基因线路就如现在的集成电路一样，只需利用不同的生物元件，即可设计组装新的基因线路，产生出希望的功能。模块化则使基因线路组装变得容易，并且可以充分利用前人组装出的生物元件，组合出更加先进的基因调控网络，并可应用强大的计算机工程工具（如 CAD 计算机辅助设计）进行综合设计。作为一个应用例子，每年一度的国际遗传工程机器竞赛（iGEM，international Genetic Engineering Machine），由美国麻省理工学院 2003 年发起主办。2009 年，有来自世界各地的 100 多个团队参赛。主办单位维护着一个相应的数据库，专门收集每年参赛团队设计出的、人工合成的基因模块。经过 6 年的积累，这个数据库里已经收集了数千个被称为“生物砖块”的基因模块，即基本生物控制元件（http：//2010. igem. org/Main _ Page）。

如果同时考察系统生物学和合成生物学，我们可以发现其实它们是相辅相成的。系统生物学的目标是通过构建一个精确的全基因组模型来研究生命现象。合成生物学通过综合基因工程、调节网络、生物合成、机电工程、纳米技术、计算机模拟等多学科技术，尝试着利用基因的序列信息和人工合成 DNA，去改造细胞内部的信号传递、新陈代谢等各种通路，从而使得细胞具有全新的功能，使其能处理信息、制造材料、产生能源、提供食物、生产药物、增进健康、改善环境等。它的终极目标是对整个生命过程进行重新设计、改造和合成，创造出新的“生命”系统。就像是同一枚硬币的两面一样，系统生物学对生命的了解和合成生物学对生命的改动创新是相互包容、相互依赖和相互转化的。它们的发展过程是一个交互过程。系统生物学的发展有助于我们深入理解生命过程，这成为合成生物学重塑生命的基础。同样的，合成生物学对人工生命系统的调控，也有助于我们通过系统生物学进一步诠释生命现象[6]。

系统生物学和合成生物学代表了当代生物学领域的最新进展。但是，它们并不是最近才涌现出来的概念。例如，系统生物学的概念早在 20 世纪 40 年代末就已经提出[7]。当时在工程科学领域，系统论已开始占有领导地位。由于当时生物学研究假设一个复杂的系统可以分割为许多不会互相干扰的子系统，并且试图将子系统研究清楚，以了解复杂系统的行为。这种方法虽然产生了生物学上的突破，但是也使系统生物学研究的基础无从生成。类似的，合成生物学在 80 年代即在文献中出现了[8]，但由于生物操作平台的限制，合成生物学的研究随即沉寂下去了。现在，开展系统生物学与合成生物学研究的时机已经成熟。它们重新获得青睐的主要原因是当代分子生物学的进展，特别是基因组测序和高通量筛选和测量使我们能够收集组学的综合数据，并且能够在各个层面上，直至分子水平上进行系统层次的分析（图 2）。系统生物学和合成生物学在人类认识生命、揭示生命的奥秘、重新设计及改造生物等方面具有重大科学意义，代表了下一代的生物技术。展望未来，这两个相互

关联的生物新学科势必快速发展，同时还有许许多多的问题需要解决，以下是几个例子。

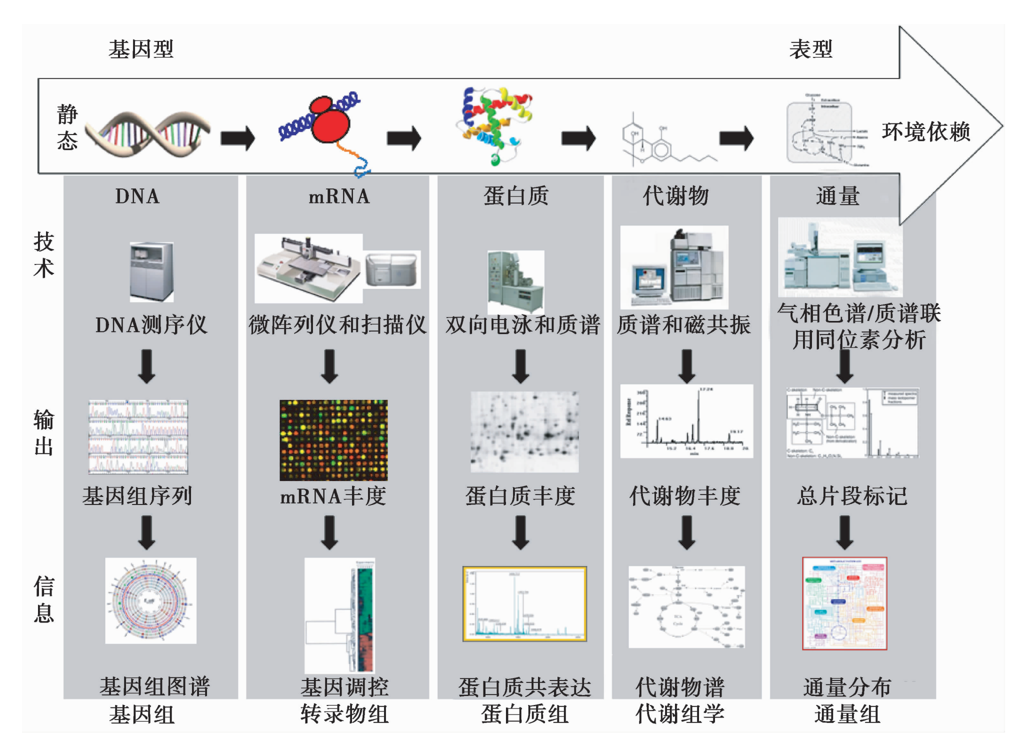


图 2　组学数据系统分析[9]

生物系统本身比工程系统更为复杂。即使是复杂工程系统也一般由相对简单的构件组合产生复杂的功能和行为，而细胞等生物是由大量结构和功能不同的相互作用的网络组成的复杂系统，并由大量生物元件非线性的相互作用产生复杂的功能和行为。生物系统的复杂性是系统生物学和合成生物学必须面对的首要问题。生物体的复杂性和大量过程的非线性动力学特征对计算科学也是一个新的挑战。

系统生物学的主要技术平台为基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、相互作用组学和表型组学等。基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学分别在DNA、mRNA、蛋白质和代谢产物水平检测和鉴别各种分子并研究其功能[9]。了解一个生物系统的基本规律，首先必须识别一个系统中所有的组成成分，建立其目标，还要了解它们在特定条件下的相互作用，以及这些相互作用的动力学机制。对生命系统而言，就必须在基因组、转录组、蛋白质组和代谢组等各个层面开展组学研究，来发现参与生命活动的所有成分，并进一步研究这些成分的相互作用和网络调控。这就要求必须有多学科的交叉和集成。组学海量数据的处理及融合也是系统

生物学一个重要的课题。

合成生物学家最雄心勃勃的目标是创造出一个仅由化学物质和 DNA 蓝图构成的“人工生命”，即通过系统生物学和合成生物学的工作，我们逐一删除一个微生物基因组中的“冗余”基因，把该微生物还原至它的无可再删的最基本的组成部分，然后利用这些基因重新造出一个具有“最小基因组”的生物。然而把生命形态简单地转化为唯一地取决于基因的组合是否忽略了生物系统的复杂性？怎样把工程系统中的信息论、控制论和系统论成功地移植到生物系统当中，以优化生命的解构和重构？在重构生命形态过程中如何包括其他生命要素使得人工生物系统得以建立？如何分解创造“人工生命”的终极目标为一系列里程碑，一步步地由生物体内各种分子的鉴别及其相互作用的研究到细胞途径、网络、模块，最终完成整个生命活动的路线图？这一个个问号，摆在新一代生命科学家和生物工程师的面前。一个个挑战，等待有志攀登生命科学高峰的科学工作者和爱好者们去应对。

参 考 文 献

[1] Fleischmann R，Adams M，White O，et al. Whole-genome random sequencing and assembly of Haemophilus influenzae Rd. Science，1995，269（5223）：496-512

[2] Kell DB，Oliver SG. Here is the evidence，now what is the hypothesis? The complementary roles inductive and hypothesis-driven science in the post-genomic era. BioEssays，2003，26（1）：99-105

[3] Ideker T，Galitski T，Hood L. A new approach to decoding life：systems biology. Annual Review of Genomics and Human Genetics，2001，2：343

[4] Kitano H. Systems biology：A brief overview. Science，2002，295：1662-1664

[5] Weiss R，Basu S，Hooshangi S，et al. Genetic circuit building blocks for cellular computation，communications，and signal processing. Natural Computing，2003，2：47-84

[6] Fu P，Panke S. Systems Biology and Synthetic Biology. Hoboken：John Wiley & Sons，2009

[7] Bertalanffy L. An Outline of General System Theory. British Journal for the Philosophy of Science，1950，1（2）：134-165

[8] Hobom B. At the doorstep of synthetic biology. Med Klin，1980，75：14-21

[9] Vemuri G，Nielsen J. Yeast as a Prototype for Systems Biology. In Systems Biology and Synthetic Biology（eds Fu PC，Panke S）. New York：John Wiley & Son，2009

撰稿人： 傅鹏程

中国石油大学（北京）

审稿人： 曹竹安　林章凛

木质纤维素资源高效生物转化的难点与问题在哪里？

——植物细胞壁的抗微生物降解屏障

What is Barrier to Developing Cost-effective Process Converting Ligno Cellulosic Biomass? Plant Cell Wall Biomass Recalcitrance to Deconstruction

能源、资源、环境问题是 21 世纪人类社会生存、发展所面临的最严峻挑战。从长远来看，石油资源将在本世纪上半叶迅速走向接近枯竭的边缘，开发可持续利用的替代资源已成为紧迫任务。地球上每年光合作用产生的生物质总量高达 10^{11} t，是可以支撑人类生存发展的重要能源和有机碳资源，其中纤维素类物质是生物质资源的主要成分（占其总量的 80%以上），其价格低廉、供应充足，且未得到充分开发利用。将可再生的生物质资源转化为洁净的液体燃料和化工原料以代替石油，不仅可以使人类摆脱对有限石油资源的过分依赖，而且能够大幅减少污染和温室气体排放，促进人类社会的可持续发展。

当前木质纤维素资源的生物转化效率较低，仍然未获得高效转化利用。转化过程低效的部分原因是人们缺乏对生物质本身结构的深入认识。植物在长期的自然进化过程中形成了抵御微生物与酶降解的天然屏障。这道“天然屏障”的化学组分多样，分子结构复杂，使得其生物转化利用的综合效率较低，还不能适应大规模工业化的要求。对原材料结构在纳米尺度及分子尺度上认识的缺乏使得人们对木质纤维素的处理策略多是来自于经验。而将生物质低成本、高效益转化成液体燃料和化学品技术的实用化将在很大程度上取决于人们对阻碍生物质解聚因素的全面分析与认识。

首先，我们需要搞清楚植物细胞壁抗降解的结构化学基础是什么？研究表明，植物细胞壁中的木质纤维素材料具有多种化学成分和多层次的超分子结构。大多数高等植物的细胞壁成分主要包括纤维素（cellulose）、半纤维素（hemicellulsoe）和木质素（lignin）三类成分。其中半纤维素成分复杂，结构异质，包括木葡聚糖（xyloglucan）、木聚糖（xylan）、同型半乳糖醛酸聚糖（homogalacturonan）、鼠李糖基半乳糖醛酸聚糖Ⅰ（rhamnogalacturonan Ⅰ）和鼠李糖基半乳糖醛酸聚糖Ⅱ（rhamnogalacturonan Ⅱ）等。半纤维素聚糖在高尔基体中合成。纤维素的结构单元是基元纤丝，是由 36 个 CesA 酶组成的玫瑰花样复合体在质膜中合成的。该酶复合体可以同时合成 36 条 β-1，4-葡聚糖链，糖链立刻聚合形成含有结晶态的基元纤丝。纤维素的结晶态妨碍了酶分子与糖链内糖苷键的直接接触，是纤维素难降解

的原因之一。半纤维素多糖骨架结构多由同一家族酶分子合成，并且这些序列同纤维素合酶 CesA 蛋白序列具有一定的相似性，被称之为“类纤维素合酶”（cellulose synthase like，CSL）。木质素也是自然界中非常丰富的有机物质，其合成过程是通过苯基丙烷（phenylpropanoid）合成途径。木质素单体/木质素合成途径会随着生存环境迁移的变化而不断进化。共价交联起来的芳香族聚合物的化学性能很稳定，非常难以被降解。而木质素包裹在纤维素外面，进一步增加了纤维素降解的难度。其他常见的细胞壁成分还有果胶质、几丁质等。细胞壁结构的复杂性导致了化学反应的不均一性、降解酶种类的多样性及酶解反应过程的复杂性[2,3]。

那么，如何才能减轻这一抗降解屏障对其工业应用的影响呢？我们应该全面认识植物细胞壁合成的过程与其调控，了解化学结构的形成过程及屏障形成的机理，基于生物炼制过程的需要而控制植物细胞壁不同组分的形成，可使其在保证植物正常生长、农产品正常产量的同时，其细胞壁组成和结构易于被预处理过程破坏，易于被生物降解转化，这是当前研究生物质生理过程的热点。随着大量的模式生物和重要作物的基因组被测序或注释完成，利用系统生物学的方法与技术，就可以方便地研究能源植物的基因及产物，改良或产生新的品系，使相关植物长得更快、产能更多、更易于解构降解，或更易于发酵形成乙醇和其他化学品[4,5]。植物生物工程可能产生新的能源作物或新型的更易降解的多糖存储结构。当然，为了使植物在生长过程中仍能够抗倒伏、抗病虫害，这样的改良是有限度的。适当的化学物理预处理（破坏植物细胞壁结构）过程仍然是必需的。

我们还应该搞清，在自然界中微生物是怎样攻击植物的抗降解屏障的？在长期的进化过程中，不同的微生物形成了不同的降解天然木质纤维素材料的策略和机理。同一种微生物可生成多种酶组分，而同一生境中可存在多种微生物，协同降解天然纤维材料。传统微生物学通过分析单个基因、微生物和生化反应等来解读生物质降解群落。近年来，分子生物学进展到可同时确定许多遗传和生理组分，但对于生物质降解机制来说，信息仍然有限。在生物化学领域新发展的蛋白质组学和高通量的酶评价方法为生物质降解机制研究提供了新的基础，但是有关微生物个体及其相互作用方面的信息还是有限的。然而，将这两种技术相结合就产生了研究生物质降解群落的“系统生物学”新方法，该方法可使微生物学家在构想建立生物质降解的新模型时，综合考虑植物生物质降解中的一系列相互作用过程。

对生物质难降解性研究的难点之一是降解生物质的天然生境系统的规模与复杂性。生物质降解和全球陆地碳循环的主角是异养微生物，陆地生物圈主要依靠复杂、动态的微生物群落对自然界中积累的生物质进行降解。尽管相关研究持续了几个世纪，我们仍然对于其中微生物个体的多样性、相互关系的复杂性知之甚少。然而人们认识到，这个群落随着时间和空间发生的变化受控于碳循环和其他一些主要元素如氮、硫、磷等循环的生化速率[6]。

天然生境系统中大量的纤维素降解菌可能还未能被培养和认知。自然界中发生的纤维素降解作用就是在这些已知的和未知的纤维素降解菌的共同作用下发生的。研究分析特殊生境天然纤维素的降解过程，以及在该过程中不同菌株或不同纤维素酶系间的协同作用，可以有助于人们探讨和揭示微生物破解植物生物质抗降解屏障的机理。继续研究丝状真菌胞外游离酶的协同降解策略、细菌多酶复合体的协同降解策略和具有独特降解特征的黏细菌策略，可以加深对降解纤维素微生物的多样性和降解酶系多样性的认识[7]。随着对特殊生境中生物质转化系统的深入研究，解析生物降解纤维素策略和机制的多样性，可为获得新的降解因子和建立更有效的降解体系奠定基础。

在分子水平上，我们要搞清楚，大分子酶蛋白是怎样降解复杂的木质纤维素分子的？认识酶解过程的构效关系，找出现有酶解工艺中主要的限制性瓶颈，针对不同的原料设计出经济有效的高效转化利用方法与途径，是当前研究的重点与难点。在降解生物质的结构多糖过程中，微生物分泌的降解酶都是复杂的酶系统而非单一的酶组分，如纤维素酶分成内切、外切酶类，而每一类酶又具有多种组分。半纤维素酶系由于其底物结构的异质性而涉及更多的酶组分。每一种酶组分都会有不同的底物专一性（如纤维素或木聚糖）以及催化特征（如外切酶从链的还原端或非还原端、内切酶在链内切割、切割侧链的酶类剪切支链的糖苷键或酯键等）。不同种类的酶、不同的酶组分之间在降解过程中是具有协同作用的，即组合酶系统的降解效率要明显高于各单组分降解效率的总和，因此要提高生物质转化过程中的酶解效率，必须发展在各个水平上的相关技术，能够描述、分析、预测、控制各种酶组分的特征和比例，研究分析不同酶分子与其之间的相互作用、不同酶分子在动力学上的协同作用，为人为构建高效降解酶系提供基础。

分子生物学和系统生物学研究的飞跃发展为我们定向设计与改造生物体系提供了近乎无限的可能，通过设计和改造植物、微生物及其降解酶系，结合相关化工技术的研究，探讨用生物和物理、化学手段联合破解此屏障的新途径，可望集成和设计出最佳的生物炼制方案[1,3]。

生物炼制技术是以木质纤维素类生物可再生资源为主要原料基础，通过生物转化技术和化学加工过程的结合，来炼制生产液体燃料与大宗化工产品的新型工业模式。通过产出多种产品，生物炼制可以综合利用生物质中的不同成分和中间产物，使原料价值最大化，是建立新型的巨大生物基产业的最有希望的技术路线。从国家战略高度看，用木质纤维素通过生物炼制生产可再生的液体燃料与化工原料，对降低人类对石油的高度依赖、支撑国家经济（尤其是农村经济）的快速发展、安排农民就业和促进全球气候改善等方面都具有重要意义，最终可为实现从以石化工业为基础的现代碳氢化合物经济，向未来可以持续发展的碳水化合物经济的逐步转变奠定坚实基础，具有十分重要的战略意义。

参 考 文 献

[1] Lynd LR，Laser MS，Bransby D，et al. How biotech can transform biofuels. Nat Biotechnol，2008，26（2）：169-172

[2] 高培基．纤维素酶降解机制及纤维素酶分子结构与功能研究进展．自然科学进展，2003，13（1）：21-22

[3] Himmel ME，Ding SY，Johnson DK，et al. Biomass recalcitrance：engineering plants and enzymes for biofuels production. Science，2007，315（5813）：804-807

[4] Cantarel BL，Coutinho PM，Rancurel C，et al. The Carbohydrate-Active EnZymes database（CAZy）：an expert resource for Glycogenomics. Nucleic Acids Res，2009，37（Database issue）：D233-D238

[5] Sticklen MB. Plant genetic engineering for biofuel production：towards affordable cellulosic ethanol. Nat Rev Genet，2008，9（6）：433-443

[6] Himmel ME. Biomass recalcitrance. Malden：Blackwell Publishing，2008

[7] Wilson DB. Three microbial strategies for plant cell wall degradation. Ann N Y Acad Sci，2008，1125：289-297

撰稿人：王禄山　曲音波

山东大学

审稿人：欧阳平凯　陈　坚

编 后 记

《10000 个科学难题》系列丛书是教育部、科学技术部、中国科学院和国家自然科学基金委员会四部门联合发起的“10000 个科学难题”征集活动的重要成果，是我国相关学科领域知名科学家集体智慧的结晶。征集的难题包括各学科尚未解决的基础理论问题，特别是学科优先发展问题、前沿问题和国际研究热点问题，也包括在学术上未获得广泛共识，存在一定争议的问题。这次征集的天文学、地球科学和生物学领域的难题，正如专家们所总结的“一些征集到的难题在相当程度上代表了我国相关学科的一些主要领域的前沿水平”。当然，由于种种原因很难做到在所有研究方向都如此，这是需要今后改进和大家见谅的。

“10000 个科学难题”征集活动是由四部门联合组织在国家层面开展的一个公益性项目，这是一项涉及我国教育界、科技界众多专家学者，为我国教育和科学技术发展、创新型国家建设，特别是科技文化建设添砖加瓦，功在当代、利在千秋、规模宏大、意义深远的工作。数理化试点阶段圆满成功，获得了专家的一致好评，社会的广泛认同。天文学、地球科学和生物学领域的难题征集正是在数理化试点阶段的基础上进行的，充分参考和借鉴了试点阶段的宝贵经验，也希望能进一步扩大“10000 个科学难题”征集活动的影响，为后续征集活动打好基础。

征集活动开展以来，我们得到了教育部、科学技术部、中国科学院、国家自然科学基金委员会有关领导的大力支持，教育部原副部长赵沁平亲自倡导了这一活动，教育部科学技术司、科学技术部条件财务司、中国科学院院士工作局、国家自然科学基金委员会计划局、教育部科学技术委员会秘书处、北京大学、中国科学院生命科学与生物技术局和动物研究所为本次征集活动的顺利开展提供了有力的组织和条件保障。由于此活动工程浩大，线长面广，人员众多，篇幅所限，书中只出现了一部分领导、专家和同志们的名单，还有许多提出了难题但这次未被收录的专家没有提及，还有很多同志默默无闻地做了大量艰苦细致的工作，如教育部科学技术委员会秘书处汪兵、凌国维、牛一丁、陈丁华、彭倚天、彭树立，北京大学周辉、李晓强、张乐乐、向华文、王秀华，中国科学院刘杰、朱江、陈浩、唐爽、成峄、郭红杰、李晓兵，中国科学院空间科学与应用研究中心任丽文，兰州大学董广辉，北京邮电大学杨放春、刘杰、李冬梅，以及科学出版社朱海燕、王静、钱俊、罗吉、夏梁、赵峰、关焱、文杨、韦沁、袁琦同志等。总之，系列丛书的顺利出版是参加这项工作的所有同志共同努力的成果。在此，我们一并深表感谢！

“10000 个科学难题”丛书天、地、生编委会

2010 年 12 月